



# Etude des propriétés interfaciales et luminescentes de microgels stimulables.

Florent Pinaud

## ► To cite this version:

Florent Pinaud. Etude des propriétés interfaciales et luminescentes de microgels stimulables.. Chimie théorique et/ou physique. Université de Bordeaux, 2015. Français. NNT : 2015BORD0096 . tel-01222748

**HAL Id: tel-01222748**

**<https://theses.hal.science/tel-01222748>**

Submitted on 30 Oct 2015

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# THÈSE

PRÉSENTÉE A

**L'UNIVERSITÉ de BORDEAUX**

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES

Par **Florent Pinaud**

POUR OBTENIR LE GRADE DE

**DOCTEUR**

SPÉCIALITÉ : Chimie Physique

---

## **ETUDE DES PROPRIETES INTERFACIALES ET LUMINESCENTES DE MICROGELS STIMULABLES**

---

Soutenue le : 09 Juin 2015

Devant la commission d'examen formée de :

M. SOJIC Neso, *Professeur, IPB*

M. DURAND Alain, *Professeur, Université de Lorraine*

M. KANOUI Frédéric, *Directeur de Recherche, Université de Paris Diderot*

Mme RAVAIN Valérie, *Maître de conférences, IPB*

M. CATARGI Bogdan, *Professeur, Université de Bordeaux*

M. WOISEL Patrice, *Professeur, ENSC*

Mme SCHMITT Véronique, *Directeur de Recherche, Université de Bordeaux*

Président

Rapporteur

Rapporteur

Directrice

Directeur

Examineur

Invitée



## Remerciements

---

Les résultats présentés dans ce manuscrit de thèse sont l'aboutissement de trois années de recherches, passées à l'Institut des Sciences Moléculaires (ISM) dans le groupe Nanosystèmes Analytiques (NSysA) de l'Université Bordeaux I. Je remercie Philippe Garrigues, directeur de l'ISM, et plus particulièrement Neso Sojic, pour l'accueil dans le laboratoire et les bonnes conditions de travail dont j'ai pu bénéficier durant ces trois années.

Je tiens à remercier chaleureusement Valérie Ravaine et Bogdan Catargi, mes deux directeurs de thèse, pour la confiance qu'ils m'ont accordée en me confiant ce projet. Je les remercie également pour leurs conseils tout au long de ces trois années qui m'ont permis d'évoluer et d'apprendre énormément.

Je tiens également à remercier l'ensemble des membres du jury, qui ont accepté d'évaluer mes travaux : Frédéric Kanoufi et Alain Durand en tant que rapporteurs, Patrice Woisel en tant qu'examineur, Neso Sojic en tant que Président du Jury et Véronique Schmitt en tant que membre invité.

Je souhaite remercier toutes les personnes avec lesquelles j'ai eu la chance de travailler : l'équipe de Walter Richtering et plus particulièrement Karen Geisel pour les travaux réalisés ensemble à Aachen, Lucio Isa pour les expériences de cryo-MEB (FreSCA) et Véronique Schmitt pour m'avoir accueilli au CRPP pour les expériences de goutte pendante et de rhéologie dilatationnelle.

Un grand merci également à l'IPB ainsi qu'à la région aquitaine d'avoir accepté de financer ces trois années de recherches. Merci aussi à la Deutsche Forschungsgemeinschaft d'avoir participé au financement de mon voyage à Aachen pour travailler dans l'équipe de Walter Richtering.

J'en viens à notre équipe : la NsysA family. Un grand merci à Véronique pour son aide, son soutien et sa disponibilité, à Patrick, pour sa bonne humeur et pour toutes les discussions que nous avons eues autour du café matinal, à Bertrand pour nos discussions dans le noir à la lueur de l'écran du microscope confocal et pour ses talents de comédien et à Aline pour sa gentillesse, son soutien et les services rendus même lorsqu'ils étaient demandés à la dernière minute. Je souhaite également remercier tous les membres permanents du laboratoire : Alexander, Neso, Stéphane, Laurent, Dodzi et Adeline qui ont tous contribué à mon enrichissement personnel et scientifique au cours de ces trois ans. Un immense merci à tous les étudiants de passage au NsysA. Je



## Remerciements

---

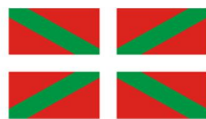
commence par les « anciens » : Matthias, Yémima, Milena, Gabi, Lisa Léa, Laurent, Catherine, Zahra, Salem et Suresh pour les soirées partagées et leur bonne humeur au sein du laboratoire. Merci à Milica avec qui j'ai pu partager ces trois années au laboratoire et merci à la relève : Aleksandar, Eugenio, Lee et Héléne. Je souhaite également remercier les étudiants, que j'ai eu la chance d'encadrer, pour leur contribution à ces projets : Pierre numéro 1, Yu Chen, Damla, Romain, Pierre numéro 2 et Loïc.

Un grand merci à mes parents ainsi qu'à l'ensemble des membres de ma famille pour le soutien qu'ils ont pu m'apporter tout au long de ces trois années ainsi que pour leur aide notamment « dans la dernière ligne droite ».

Merci aussi à tous les amis bordelais et non-bordelais pour leur soutien avec une mention spéciale pour Charlotte et Victor les meilleurs voisins et amis toujours prêts à passer un moment convivial et à rendre service.

Un grand merci à Azera, ma petite furette toujours prête à jouer et toujours aussi heureuse de me voir lors de mon retour à la maison. Merci pour ces moments de distraction qui redonnent le sourire même après les journées difficiles.

Et enfin, je ne peux pas terminer sans remercier Lilou, avec qui je partage ma vie depuis ma deuxième année de DUT et sans qui je ne serais pas là où j'en suis aujourd'hui. Son soutien et ses encouragements ont été de loin les plus efficaces. Ces moments difficiles traversés ensemble nous ont permis d'en ressortir plus fort ! Merci mon amour !



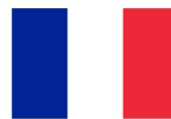
***Txoria Txori***

Hegoak ebaki banizkio  
Neria izango zen  
Ez zuen aldegingo.

Bainan honela  
Ez zen gehiago txoria izango.

Eta nik,  
Txoria nuen maite.

Joxean Artze



***L'oiseau***

Si je lui avais coupé les ailes  
Il aurait été à moi  
Il ne serait pas parti

Mais alors  
Il n'aurait plus été un oiseau

Et moi,  
C'est l'oiseau que j'aimais

Joxean Artze

## Liste des Abréviations

---

### Liste des Abréviations

AAc	Acide acrylique
AAPBA	Acide 3-acrylamidophénylboronique
APBA	Acide 3-aminophénylboronique
APM	N-(3-aminopropyl)méthacrylamide
ARS	Alizarine
BIS	N,N'-bisacrylamide
CMC	Concentration micellaire critique
CV	Voltampérométrie cyclique
cya5-NHS	Disulfo-cyanine-5-N-hydroxysuccinimide
DBAE	Dibutylaminoéthanol
DCC	N,N'-dicyclohexylcarbodiimide
DLS	Diffusion dynamique de la lumière
DMF	Diméthylformamide
DPA	9,10-diphénylanthracène
DPV	Voltampérométrie différentielle à impulsion
ECL	Electrocimiluminescence
ED	Ethylène diamine
EDC	1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide
LC	Transition électronique centrée sur le ligand
LCST	Lower Critical Solution Temperature
MAA	Acide méthacrylique
MC	Transition électronique centrée sur le métal
MET	Microscopie électronique à transmission

## Liste des Abréviations

---

MLCT	Transition électronique du métal vers le ligand
$\text{mRu}(\text{bipy})_3^{2+}$	Ruthénium(II) (4-vinyl-4'-methyl-2,2'-bipyridine)bis(2,2'-bipyridine)
NIPAM	N-isopropylacrylamide
NIPMAM	N-isopropylmethacrylamide
NNPAM	N-n-propylacrylamide
PCCA	Polymerized Colloidal Crystal Array
PI	Polyisoprène
PMMA	Polyméthacrylate de méthyle
PPC	Polycarbonate de propylène
PS	Polystyrène
THF	Tetrahydrofuran
TMPD	N,N,N,N-tetramethyl-p-phenylenediamine
TPrA	Tri-n-propylamine
$\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$	Ruthénium(II)tris(2,2'-bipyridine)
SDS	Dodécylsulfate de sodium
SEF	Surface enhanced fluorescence
SFEP	Surfactant free emulsion polymerization
TEM	Microscopie électronique à transmission
THF	Tétrahydrofuran
TTAB	Tétradécyl triméthylammonium bromure
UCST	Upper Critical Solution Temperature
VAA	Acide vinylacétique
VPTT	Volume Phase Transition Temperature

<b>INTRODUCTION GENERALE.....</b>	<b>1</b>
<b>CHAPITRE I : LES MICROGELS STIMULABLES : SYNTHÈSE, PROPRIÉTÉS ET APPLICATION .....</b>	<b>5</b>
<b>I. Les hydrogels stimulables .....</b>	<b>6</b>
I.1. Définition des hydrogels .....	6
I.2. Structure des hydrogels .....	7
I.3. Théorie de gonflement.....	8
I.3.1. Cas des hydrogels neutres .....	8
I.3.2. Cas des hydrogels chargés .....	10
I.4. Les hydrogels stimulables.....	11
I.4.1. Les hydrogels thermosensibles .....	11
I.4.2. Les hydrogels sensibles au pH.....	12
I.4.3. Les hydrogels sensibles au glucose .....	13
I.5. Influence de la taille des hydrogels .....	15
<b>II. Synthèse et propriétés des microgels de poly(NIPAM).....</b>	<b>15</b>
II.1. Synthèse de microgels de poly(NIPAM) .....	16
II.1.1. Principe .....	16
II.1.2. Contrôle de la taille par ajout de tensioactifs .....	17
II.1.3. Structure des microgels.....	18
II.1.4. Introduction de co-monomères.....	20
II.2. Propriétés des microgels en solution.....	22

## Sommaire

---

II.2.1. Gonflement des microgels et transition de phase volumique .....	22
II.2.2. Propriétés des suspensions de microgels diluées .....	26
II.2.3. Propriétés des suspensions de microgels concentrées .....	27
II.2.4. Déformabilité des microgels.....	29
<b>III. Microgels multifonctionnels .....</b>	<b>30</b>
III.1. Contrôle des structures à base de gel.....	31
III.1.1. Microgels cœur-écorces .....	31
III.1.2. Capsules d'hydrogels.....	32
III.2. Microgels fonctionnels .....	34
III.2.1. Microgels composites.....	34
III.2.2. Microgels hybrides .....	35
<b>IV. Applications des microgels stimulables.....</b>	<b>36</b>
IV.1. Les différents secteurs d'application .....	36
IV.2. Capteurs et biocapteurs .....	37
<b>V. Présentation des enjeux de la thèse .....</b>	<b>44</b>
<b>CHAPITRE II : MICROGELS ELECTROCHIMILUMINESCENTS POUR LE DEVELOPPEMENT D'UNE NOUVELLE GAMME DE BIOCAPTEURS .....</b>	<b>53</b>
<b>Introduction .....</b>	<b>54</b>
<b>I. L'électrochimiluminescence.....</b>	<b>56</b>
I.1. Aperçu historique de l'électrochimiluminescence .....	56
I.2. Génération d'ECL par annihilation .....	57

## Sommaire

---

I.3. Génération d'ECL avec un co-réactif.....	59
I.3.1. Utilisation des ions oxalate comme co-réactif.....	59
I.3.2. Utilisation des amines tertiaire .....	61
I.4. Applications de l'ECL.....	62
<b>II. Méthodes expérimentales dédiées à l'étude des microgels ECL .....</b>	<b>64</b>
II.1. Préparation des matériaux.....	64
II.1.1. Stratégie de synthèse.....	64
II.1.2. Synthèse du (4-vinyl-4'-methyl-2,2'bipyridine)bis(2,2'-bipyridine) .....	65
II.1.3. Synthèse du N-n-propylacrylamide .....	68
II.1.4. Synthèse des microgels.....	68
II.1.5. Fonctionnalisation par greffage.....	71
II.2. Méthode de caractérisation.....	73
<b>III. Etude de l'impact de la transition de phase des microgels thermosensibles sur les propriétés de luminescence.....</b>	<b>77</b>
III.1. Caractérisation des microgels .....	77
III.2. Comportement des microgels en solution. Aspect stimulables.....	79
III.3. Propriétés de photoluminescence.....	82
III.3.1. Propriétés spectroscopiques du complexe de ruthénium en solution .....	82
III.3.2. Photoluminescence des microgels copolymérisés avec le $mRu(bipy)_3^{2+}$ .....	84
III.4. Propriétés électrochimiques et d'ECL.....	86
III.4.1. Propriétés électrochimiques .....	86

## Sommaire

---

III.4.2. Propriétés d'ECL .....	89
III.4.2.1. Etude des microgels à base de NIPAM.....	89
III.4.2.2. Etude de microgels luminescents avec différentes températures de transition de phase.....	94
III.4.2.3. Influence de la nature du co-réactif .....	95
III.5. Discussion .....	98
<b>IV. Application à la détection des sucres.....</b>	<b>101</b>
IV.1. Caractérisation de microgels luminescents sensibles aux sucres .....	102
IV.1.1. Caractérisation des microgels .....	102
IV.1.2. Etude de l'aspect stimuable des microgels .....	104
IV.2. Influence de la concentration en fructose sur la photoluminescence .....	107
IV.3. Influence de la concentration en fructose sur l'ECL.....	110
<b>V. Modification des propriétés de luminescence de microgels thermosensibles par transfert d'énergie entre molécules fluorescentes.....</b>	<b>112</b>
V.1. Objectifs et contexte .....	113
V.1.1. Rappel du principe de FRET .....	113
V.1.2. Transfert d'énergie par résonance en ECL (ECRET).....	114
V.1.3. Stratégie développée pour l'étude des microgels.....	116
V.2. Etude de microgel d'architecture « simple » .....	118
V.2.1. Caractérisation des microgels.....	118
V.2.2. Transfert d'énergie initié par photoluminescence.....	121
V.2.3. Etude des propriétés d'ECL .....	126

## Sommaire

---

V.3. Etude de microgels cœur-écorce .....	133
V.3.1 Caractérisation des microgels.....	133
V.3.2. Etude du transfert d'énergie en photoluminescence .....	135
V.3.3. Etude des propriétés d'ECL .....	136
<b>Conclusion .....</b>	<b>138</b>
<b>CHAPITRE III : ETUDE DU COMPORTEMENT DES MICROGELS AUX INTERFACES LIQUIDES.....</b>	<b>143</b>
<b>Introduction .....</b>	<b>144</b>
<b>I. Contexte de l'étude.....</b>	<b>146</b>
I.1. Emulsions stabilisées par des particules solides.....	146
I.2. Emulsions stabilisées par des microgels .....	149
I.2.1. Tension de surface des interfaces couvertes de microgels.....	149
I.2.2. Propriétés mécaniques des interfaces couvertes de microgels.....	151
I.2.3. Organisation des microgels à l'interface eau-huile .....	153
I.2.4. Adhésion des émulsions stabilisées par des microgels .....	158
<b>II. Etude des microgels adsorbés aux interfaces modèles.....</b>	<b>161</b>
II.1. Partie expérimentale.....	161
II.1.1. Synthèse et caractérisation des microgels.....	161
II.1.2. Préparation et caractérisation des émulsions.....	162
II.1.3. Films de Langmuir .....	163
II.1.4 Tension interfaciale dynamique .....	165



## Sommaire

---

II.1.5 Rhéologie dilatationnelle .....	166
II.1.6. Observation des microgels adsorbés à la surface d'émulsions.....	166
II.1.7. Observation des microgels adsorbés à une interface plane .....	167
II.2. Résultats expérimentaux .....	168
II.2.1. Caractérisation des microgels.....	168
II.2.2. Films de Langmuir : étude en compression.....	170
II.2.2.1. Mise au point des conditions expérimentales.....	170
II.2.2.2. Evolution de l'organisation des microgels en fonction de la compression .....	171
II.2.2.3. Influence du taux de réticulation.....	175
II.2.3. Adsorption spontanée des microgels : étude en goutte pendante.....	176
II.2.3.1. Influence de la concentration en microgels .....	176
II.2.3.2. Influence du taux de réticulation.....	178
II.2.4. Etude des propriétés mécaniques des interfaces par rhéologie dilatationnelle .....	179
II.2.4.1. Etude en fonction du temps .....	179
II.2.4.2. Propriétés mécaniques en fonction de l'organisation du film .....	180
II.2.5. Discussion.....	182
II.2.5.1. Adsorption spontanée et conformation des microgels.....	182
II.2.5.2. Comparaison entre l'organisation des microgels à une interface plane et à l'interface d'émulsions .....	184
II.2.5.3. Comparaison de l'adsorption des microgels à d'autres espèces .....	187
<b>Conclusion .....</b>	<b>193</b>

<b>CHAPITRE IV : FONCTIONNALISATION DES MICROGELS AUX INTERFACES : VERS DES MICROGELS JANUS .....</b>	<b>197</b>
<b>Introduction .....</b>	<b>198</b>
<b>I. Contexte de l'étude : étude bibliographique sur la synthèse de particules Janus.....</b>	<b>200</b>
I.1. Dissymétrisation par fonctionnalisation d'objets adsorbés à une interface .....	200
I.2. Obtention de particules Janus par séparation de phase .....	202
I.3. Obtention de particules Janus par confinement de fluides.....	205
I.4. Obtention de particules Janus par auto-assemblage .....	208
I.5. Conclusion de l'étude bibliographique .....	209
<b>II. Stratégie de synthèse de microgels Janus et protocole expérimental .....</b>	<b>209</b>
II.1. Stratégie de synthèse .....	209
II.2. Protocole expérimental .....	212
II.2.1. Synthèse des microgels.....	212
II.2.2. Caractérisation des microgels.....	213
II.2.3. Etude du comportement à l'interface eau-huile .....	215
II.2.4. Fonctionnalisation des microgels .....	217
<b>III. Synthèse et caractérisation des microgels .....</b>	<b>220</b>
III.1. Microgels classiques.....	220
III.2. Microgels micrométriques.....	221
<b>IV. Etude du comportement des microgels à l'interface.....</b>	<b>223</b>
IV.1. Cas des microgels « classiques » .....	223

## Sommaire

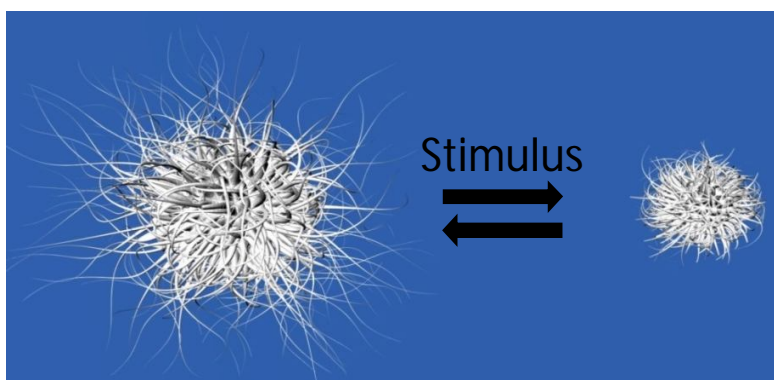
---

IV.2. Cas des microgels micrométriques.....	225
<b>V. Fonctionnalisation des microgels à l'interface eau-huile.....</b>	<b>228</b>
V.1. Etude sur les microgels classiques.....	228
V.1.1. Mise en évidence de la dissymétrisation des microgels .....	228
V.1.2. Dissymétrisation d'hydrophobie des microgels.....	229
V.1.2.1. Fonctionnalisation des microgels en volume .....	229
V.1.2.2. Fonctionnalisation des microgels « classiques » à l'interface .....	232
V.2. Etude sur les microgels micrométriques.....	236
V.2.1. Mise en évidence de la dissymétrisation des microgels .....	236
V.2.1.1. Comparaison entre différentes structures .....	236
V.2.1.2. Fonctionnalisation avec un agent de couplage soluble dans l'huile .....	238
V.2.2. Dissymétrisation d'hydrophobie des microgels micrométriques.....	242
V.2.3. Dissymétrisation de charges des microgels.....	244
V.2.3.1. Fonctionnalisation avec l'agent de couplage hydrosoluble.....	246
V.2.3.2. Fonctionnalisation avec l'agent de couplage soluble dans la phase organique .....	247
V.3. Discussion sur la conformation des microgels à l'interface eau-huile .....	249
<b>Conclusion .....</b>	<b>251</b>
 <b>CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....</b>	 <b>255</b>

# Introduction générale

---

Les microgels sont des particules d'hydrogel, dont le caractère stimuable et déformable laisse entrevoir de nouvelles opportunités pour l'élaboration de matériaux innovants. Les hydrogels stimulables sont des matériaux constitués de polymères réticulés ce qui en fait des objets insolubles, poreux et déformables. Parmi ces hydrogels, certains sont dit stimulables ou « intelligents », car ils ont la capacité de changer leur volume en réponse à un stimulus de manière réversible en absorbant ou en expulsant l'eau qu'ils contiennent. Ainsi les propriétés de gonflement du réseau peuvent être modulées non seulement par des critères physico-chimiques, mais également en réponse à un changement des conditions environnementales. Le taux de gonflement peut varier de façon considérable par application de ce stimulus, jusqu'à plusieurs ordres de grandeur en volume. De surcroît, cette transformation est réversible dans la mesure où la réticulation du réseau est permanente *via* des liaisons covalentes. La miniaturisation de ces objets en microgels est notamment intéressante d'un point de vue cinétique. En effet, le gonflement ou la contraction de ces gels macroscopiques est un processus relativement long (plusieurs heures), car il est limité par la diffusion des espèces dans la matrice. Cependant il est possible d'obtenir des temps de réponse très courts en diminuant la taille caractéristique des objets.



Ces variations de gonflement s'accompagnent d'une modification de la plupart des propriétés physiques des hydrogels. Ainsi, le volume, les propriétés optiques, mécaniques ou encore la porosité peuvent varier en réponse à un stimulus. De nombreux stimuli ont ainsi été utilisés comme la température, le pH, ou des champs électromagnétiques comme la lumière. Plus récemment, la reconnaissance moléculaire d'une espèce d'intérêt biologique, comme le glucose, a été utilisée comme stimulus. A l'échelle de l'objet unique, ce type de matériaux, et plus particulièrement les microgels, représente un intérêt grandissant auprès de la communauté

scientifique, notamment pour des applications dans le domaine biomédical pour la vectorisation et la délivrance contrôlée de principe actif, l'imagerie médicale, ou la détection d'espèces en solution. D'un point de vue mécanique, les particules d'hydrogel présentent la particularité d'être déformables, contrairement aux particules solides, ce qui laisse présager un comportement particulier, notamment vis-à-vis de leur écoulement dans des milieux confinés. Plus globalement, d'un point de vue conceptuel, ces objets se positionnent comme un intermédiaire entre les particules rigides et les polymères linaires en solution. Cette dualité est aussi à l'origine du récent engouement de la communauté scientifique pour ces matériaux en tant qu'additifs de formulation. En effet, collectivement, ils permettent de modifier les propriétés rhéologiques des solutions pour leur apporter des comportements originaux, ils peuvent s'assembler en structures périodiques stimulables ou encore stabiliser durablement des émulsions.

La modification de la structure interne des microgels est un levier qui permet d'adapter leurs propriétés aux applications envisagées. Pour exemple, les propriétés des microgels diffèrent en fonction de la méthode de synthèse utilisée (batch ou semi-batch), car la densité de réticulation n'est pas la même. Des architectures complexes peuvent également être envisagées comme des microgels cœur-écorce, des capsules creuses ou encore des microgels non symétriques. Ces types de structures permettent soit la préparation de microgels multisensibles et/ou multifonctionnels pour les deux premiers types de structures, soit des microgels dont la capacité de stockage de principe actif est augmentée dans le cas des capsules. Le choix de l'architecture a donc une grande importance dans le design de microgels d'hydrogels stimulables pour une application précise.

Ce travail de thèse s'inscrit dans une démarche fondamentale afin de développer de nouveaux concepts tirant profit des propriétés stimulables et de la déformabilité intrinsèque des microgels, tout en approfondissant les connaissances sur le comportement de ces objets en solution et aux interfaces. Ainsi, ce mémoire présente les travaux effectués sur l'élaboration de microgels électrochimiluminescents et le comportement de microgels à une interface liquide. Cette connaissance est enfin mise à profit pour fonctionnaliser régiosélectivement les microgels adsorbés à la surface de gouttes d'huile. Le manuscrit se divise en 4 chapitres.

Le **chapitre I** décrit les concepts généraux sur les hydrogels stimulables, la synthèse et les propriétés de nanoparticules d'hydrogels stimulables, principalement à base de poly-n-

isopropylacrylamide (poly(NIPAM)). Nous dresserons également un état de l'art des différentes fonctionnalités de ces microgels ainsi que des applications qui en découlent. Ce chapitre est construit dans le but de présenter les notions abordées tout au long du manuscrit.

Dans le **Chapitre II**, nous présentons les travaux sur le développement d'un nouveau type de microgels électrochimiluminescents à base de microgels de poly(NIPAM). Pour cela un complexe métallique de ruthénium possédant à la fois des propriétés redox et de luminescence est incorporé dans la matrice polymère par copolymérisation. Par la suite, les propriétés de photoluminescence, électrochimiques et d'électrochimiluminescence sont étudiées en fonction du taux de gonflement des microgels. Cette étude est tout d'abord réalisée sur un stimulus simple (la température), puis de nouveaux matériaux sensibles aux saccharides sont préparés afin d'obtenir des capteurs sensibles à une biomolécule. Dans une dernière partie, nous présentons notre étude sur l'élaboration de capteurs capables de changer de longueur d'onde d'émission grâce à un transfert d'énergie entre deux molécules fluorescentes.

Le **chapitre III** est dédié à l'étude des microgels adsorbés à des interfaces eau-huile modèles. Dans un premier temps nous étudions le comportement des microgels adsorbés à l'interface plane eau-huile sous compression forcée, puis nous comparons ces résultats avec ceux obtenus en adsorption spontanée. Les propriétés mécaniques des interfaces couvertes de microgels sont ensuite étudiées en rhéologie dilatationnelle afin de faire le lien entre la morphologie des microgels et les propriétés mécaniques des interfaces recouvertes. L'impact de la concentration des microgels et de leur morphologie sur le comportement à l'interface est étudié afin d'appréhender le rôle de la déformabilité dans ces processus.

Enfin dans le **chapitre IV**, nous présentons les résultats sur la dissymétrisation des microgels adsorbés à l'interface eau-huile. Lors de cette étude nous nous servons des connaissances sur les microgels adsorbés aux interfaces, acquises par l'équipe avant le début de ma thèse et celles acquises dans le chapitre III, pour optimiser la préparation de ces matériaux. Les expériences sont réalisées sur des microgels dits « classiques » dont le diamètre est inférieur au micron, puis sur des particules de plusieurs microns afin de faciliter leur caractérisation. Ces matériaux sont fonctionnalisés avec une molécule fluorescente afin de mettre en évidence le caractère dissymétrique, puis avec des molécules capables d'engendrer une différence d'hydrophobie ou de charge en fonction du pH. La forme et l'auto-assemblage en fonction du pH sont alors étudiés.

**Chapitre I :**

**Les microgels stimulables : synthèse,  
propriétés et application**

---



L'objectif de ce chapitre est de dresser un état des lieux sur les microgels stimulables, afin de présenter les matériaux qui font l'objet des études présentées dans ce manuscrit. Nous donnerons tout d'abord quelques concepts généraux sur les hydrogels stimulables, nous présenterons ensuite la synthèse et les propriétés des microgels de poly(NIPAM). Enfin, après avoir présenté leurs fonctionnalités et leurs applications, nous aborderons les enjeux de cette thèse.

## **I. Les hydrogels stimulables**

Dans cette partie nous allons présenter quelques définitions, afin de mieux comprendre les matériaux qui seront à la base de ces travaux.

### **I.1. Définition des hydrogels**

Un gel résulte de l'association de deux constituants : un réseau et un solvant.<sup>1</sup> Le réseau est constitué d'un ensemble tridimensionnel d'entités microscopiques connectées par des nœuds de réticulation où les unités de base peuvent être des chaînes polymères ou des objets colloïdaux. Dans le cas des réseaux de polymères, un gel se forme si le polymère présente une affinité pour le solvant. En effet, grâce à cette affinité, les molécules de solvant vont solvater les chaînes et gonfler le réseau, qui reste insoluble grâce à la présence d'une réticulation. L'ensemble macroscopique réseau polymère/solvant porte le nom de gel. Une dénomination particulière des gels est celle des hydrogels, où le solvant absorbé est l'eau, ce qui rend l'ensemble généralement biocompatible.<sup>2</sup> Plusieurs classes d'hydrogels peuvent être répertoriées, selon la nature du réseau et du réticulant. Ainsi les chaînes peuvent être neutres ou chargées. Si elles sont chargées, le gel est nommé gel de polyélectrolyte. Sinon il est nommé gel neutre. Comme mentionné ci-dessus, il est crucial de réticuler le réseau, afin de maintenir sa structure tridimensionnelle et d'éviter sa dissolution. Cette réticulation peut avoir plusieurs origines. Elle peut être qualifiée de physique lorsqu'elle met en jeu des liaisons de faible énergie comme les liaisons électrostatiques, hydrogènes ou de Van der Waals.<sup>3</sup> Certains systèmes biologiques peuvent également s'associer *via* la formation d'hélices.<sup>4,5</sup> Les liaisons physiques peuvent se dissocier et la formation du réseau est réversible. La dernière classe d'hydrogels est celle des hydrogels chimiques.<sup>6</sup> Dans ce cas, le réseau est constitué de liaisons covalentes entre les chaînes, ce qui rend le réseau généralement

plus stable. Ainsi, un gel chimique est constitué d'un réseau permanent dont la densité de réticulation ne dépend pas de facteurs externes. Dans le cadre de ce mémoire, les particules étudiées font partie de la classe des hydrogels chimiques.

## I.2. Structure des hydrogels

Par la suite, les grandeurs associées au réseau et au fluide seront indexées 2 et 1 respectivement. Un gel chimique, dont la structure générale est présentée Figure I. 1, est une structure poreuse caractérisée par :

- la fraction volumique en polymère lorsque le gel est à l'état gonflé ( $\phi_2$ ). Ce paramètre traduit la quantité de fluide absorbé au sein du réseau ;
- la fonctionnalité des nœuds de réticulation ( $f$ ) qui traduit le nombre de chaînes connectées à un nœud ;
- La masse moyenne des chaînes entre deux nœuds consécutifs ( $M_C$ ). Il est également possible d'exprimer ce paramètre en nombre moyen d'unités monomères ( $N$ ). Ces deux grandeurs sont reliées entre elles par la masse moléculaire du monomère.

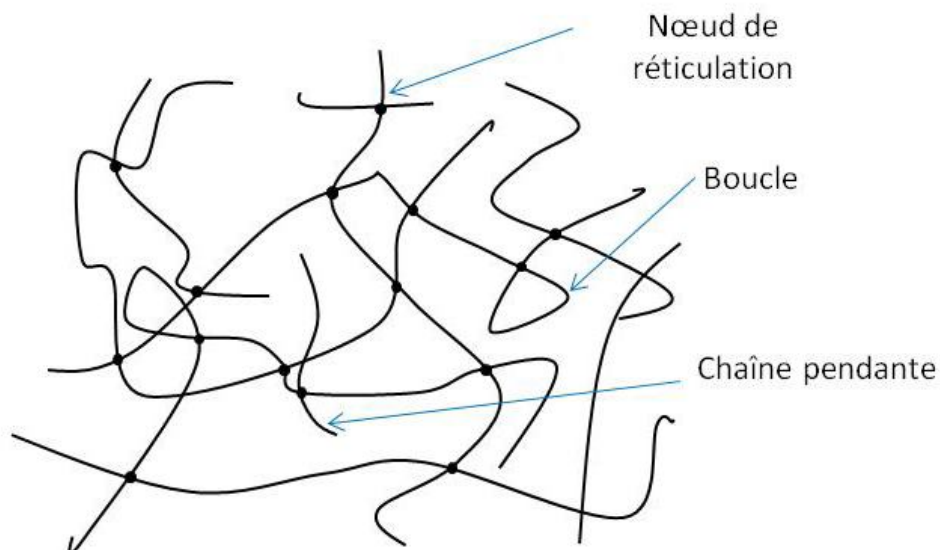


Figure I. 1 : Schéma de la structure d'un gel chimique.

Pour un réseau idéal, les paramètres  $f$  et  $M_C$  sont constants sur tout le réseau et les chaînes ne sont reliées entre elles que par des liens chimiques. En réalité, les réseaux présentent de nombreux

défauts liés à la synthèse des gels. En effet, ils sont constitués de points d'enchevêtrements, qui créent des nœuds de réticulation supplémentaires, ou encore des chaînes pendantes, connectées uniquement par une de ces extrémités au réseau. On discerne également la présence de boucles, c'est-à-dire une même chaîne connectée au même nœud de réticulation. Macroscopiquement, un hydrogel est un matériau poreux, mou, et capable de conserver sa forme, malgré la tension de son propre poids. Cependant, les propriétés viscoélastiques du réseau sont relativement faibles, avec des modules élastiques compris entre 1kPa et 10 kPa, en comparaison à celles des élastomères dont les modules plafonnent autour de 100 kPa.<sup>7</sup> Ainsi, le réseau peut subir de grandes déformations linéaires sous faibles contraintes. D'un point de vue mécanique, les gels sont traités comme des solides élastiques alors que d'un point de vue thermodynamique, ils sont plutôt considérés comme des polymères en solution. Au final ces objets sont considérés comme un intermédiaire entre le solide et le liquide.

### **I.3. Théorie de gonflement**

Bien qu'il existe différentes classes d'hydrogels stimulables ou non, l'une des caractéristiques communes est leur capacité à gonfler dans l'eau. Le réseau a tendance à se disperser le plus possible, dans le but de diminuer au maximum son énergie libre. Contrairement aux macromolécules non-réticulées, l'état de dispersion est limité par la présence de nœuds de réticulation permanents entre les chaînes. Il existe alors une compétition entre les forces qui tendent à disperser les chaînes polymères et les forces qui tendent à limiter cette dispersion.

#### **I.3.1. Cas des hydrogels neutres**

Le gonflement des gels neutres peut-être expliqué par la théorie de Flory.<sup>8</sup> Le gonflement d'un hydrogel est conditionné par un ensemble de contributions indépendantes de ses deux parties constitutives à savoir son réseau et le solvant. L'équilibre de gonflement des hydrogels dépend alors de la densité de réticulation et du caractère hydrophile des chaînes polymères. Il est décrit par la pression de gonflement, elle-même composée d'une partie osmotique ( $\pi_{osm}$ ) et d'une partie élastique ( $\pi_{el}$ ) de telle sorte que :<sup>9</sup>

$$\pi = \pi_{osm} + \pi_{el} \quad (1)$$

Selon la théorie de Flory, un hydrogel tend à maximiser les interactions entre ses chaînes polymères et le milieu extérieur en respectant l'équilibre des potentiels chimiques entre l'intérieur et l'extérieur du réseau. Cette première contribution est modulée selon l'affinité des chaînes polymères avec le solvant. Ainsi,  $\pi_{\text{osm}}$  peut également être noté  $\pi_{\text{mél}}$ . Bien que le réseau immergé dans un bon solvant ait tendance à se disperser le plus loin possible, cette action est limitée par la réticulation permanente. Cette réaction élastique est exprimée par  $\pi_{\text{el}}$ , et agit contre le gonflement. Il va s'en suivre une compétition entre l'énergie qui tend à disperser les chaînes et l'énergie qui tend à ramener la conformation moyenne des chaînes dans leur état d'équilibre, c'est-à-dire sans étirage. Ainsi le degré de réticulation de l'hydrogel limite le gonflement de l'hydrogel jusqu'à l'équilibre des pressions élastiques du système et des pressions osmotiques. En d'autres termes l'équilibre est atteint lorsque la pression  $\pi$  est nulle.

D'un point de vue thermodynamique, le gonflement d'un gel peut être vu comme le mélange d'un réseau dans un solvant. En adaptant la théorie des polymères en solution, Flory postule que l'enthalpie libre de mélange d'un réseau de polymère réticulé en immersion dans un fluide ( $\Delta G_{\text{tot}}$ ) combine deux grandeurs opposées : une enthalpie libre de mélange des polymères en solution ( $\Delta G_{\text{mel}}$ ) et un terme supplémentaire d'énergie libre élastique ( $\Delta G_{\text{el}}$ ) pour tenir compte des effets de la réticulation, soit :<sup>10</sup>

$$\Delta G_{\text{tot}} = \Delta G_{\text{mel}} + \Delta G_{\text{el}} \quad (2)$$

Le gonflement du réseau à l'équilibre correspond à la situation où la pression  $\pi$  est nulle. Sachant que  $\pi$  dérive de l'enthalpie libre, on admet que la fraction volumique en polymère  $\phi_2$  à l'équilibre est donnée par :<sup>11</sup>

$$\phi_2 = \left\{ \frac{X v_1}{v_c \left( \frac{1}{2} - \chi_{12} \right)} \right\}^{\frac{3}{5}} \quad (3)$$

Où  $X$  représente le nombre de points de réticulation présents dans le réseau à l'état contracté et  $v_1$  rappelle le volume molaire du solvant. La grandeur  $\frac{X}{v_c}$  décrit la densité moyenne de réticulant au sein de l'hydrogel à l'état contracté. La grandeur  $\chi_{12}$  est le paramètre d'interaction de Flory entre le solvant et le polymère, et peut être discriminé de la manière suivante :

- pour  $\chi_{12} > \frac{1}{2}$ , le polymère, plus difficile à dissoudre, est en régime mauvais solvant
- pour  $\chi_{12} < \frac{1}{2}$ , le polymère est en bon solvant
- pour  $\chi_{12} = \frac{1}{2}$ , le polymère est dans un état de solvation nommé solvant  $\Theta$ .

Ainsi, le gonflement d'un réseau neutre est associé à sa fraction volumique qui dépend de la composition de ce dernier (nœud de réticulation), mais aussi de sa solvation (contribution du paramètre de Flory).

### I.3.2. Cas des hydrogels chargés

Dans le cas où le réseau est chargé, le gonflement ne peut pas être directement associé aux considérations décrites ci-dessus. Pour les hydrogels de polyélectrolytes, la présence de groupements chargés le long de la chaîne s'accompagne de contre-ions mobiles, qui assurent l'électroneutralité. Il existe ainsi, au sein du réseau une pression osmotique exercée par les contre-ions et des répulsions électrostatiques entre les chaînes de polymère, conduisant à des taux de gonflement largement supérieurs à leurs homologues neutres. Ces capacités d'absorption ont été largement exploitées dans des applications telles que l'hygiène, les applications médicales, les fertilisants de sol ou encore les produits anti-inondation. Langer et Peppas recensent en 2003 que le champ d'application des hydrogels compte 40 000 préparations pharmaceutiques, 8 000 dispositifs médicaux et 2 500 produits pour le diagnostic.<sup>12</sup> L'incorporation de groupements ionisés dans la matrice va engendrer la présence de contre-ions mobiles à l'intérieur du gel. Cet excès d'ions mobiles entre le milieu intérieur et extérieur, gouverné par l'équilibre de Donnan, entraîne alors le gonflement de l'hydrogel. On note également que la présence de charges sur les chaînes implique des répulsions électrostatiques entre elles, favorisant ainsi le gonflement du réseau.<sup>13</sup>

La théorie des gels neutres est complétée par des termes supplémentaires  $\pi_{ion}$  (contribution des ions) et  $\pi_{coul}$  (contribution électrostatique). Chacune de ces contributions agissent en faveur d'un gonflement du réseau.

$$\pi = \pi_{osm} + \pi_{el} + \pi_{ion} + \pi_{coul} \quad (4)$$

Pour les réseaux faiblement chargés, la contribution électrostatique est négligeable comparée à la pression osmotique des ions, elle est donc souvent négligée.<sup>14</sup> La contribution des contre-ions peut quant à elle s'écrire de la manière suivante :

$$\pi_{ion} = \frac{k_B T}{v_1} \{m\varphi_2 \ln(m\varphi_2)\} \quad (5)$$

où  $m$  est le degré d'ionisation du réseau. En régime bon solvant ( $\varphi_2 > 0$ , soit  $\chi_{12} < \frac{1}{2}$ ), la contribution des charges apporte une pression positive, soit un gonflement supplémentaire en comparaison à celui d'un gel non chargé. En mauvais solvant ( $\chi_{12} > \frac{1}{2}$ ), les gels ioniques se caractérisent par une importante « résistance entropique » au dégonflement. Le confinement des contre-ions est très défavorable, ce qui se traduit par le maintien de l'état gonflé pour des valeurs de  $\chi_{12}$  très supérieures à 0,5. Toutefois, à partir d'une valeur critique du paramètre de Flory, cette « résistance » ne contrebalance plus l'effet de non-solvation et le gel se contracte de manière discontinue.

#### I.4. Les hydrogels stimulables

Le paragraphe précédent a permis de montrer que différents paramètres permettent de moduler l'état de gonflement d'un gel selon trois critères :

- Modification de la densité de charge ( $\pi_{ion}$ ) ;
- Modification de l'affinité polymère-solvant ( $\chi_{12}$ ) ;
- Modification de la densité de réticulation ( $X$ ).

Il est alors possible, en changeant les conditions environnementales, de modifier cet état de gonflement et par conséquent, de modifier les propriétés physiques du gel. On parle alors d'hydrogel stimuable. Nous allons présenter ici les principaux stimuli utilisés dans ce manuscrit.

##### I.4.1. Les hydrogels thermosensibles

En règle générale, les hydrogels thermosensibles sont composés de polymères dont la solubilité varie avec la température car les affinités entre les polymères et le solvant varient. Ces matériaux se distinguent en deux classes :

- les polymères à UCST (Upper Critical Solution Temperature), solubles au-dessus d'une certaine température critique
- les polymères à LCST (Lower Critical Solution Temperature), qui deviennent insolubles et donc précipitent au-dessus de la température critique.

La majorité des polymères thermosensibles présente une LCST. Le plus étudié d'entre eux, que nous utiliserons dans tous nos travaux, est le poly(N-isopropylacrylamide), noté poly(NIPAM), dont la LCST est de 32 °C.<sup>15</sup> Lorsque ces polymères sont réticulés, ils forment des hydrogels thermosensibles capables de se contracter lorsqu'ils sont chauffés à une température supérieure à la LCST. Le passage en mauvais solvant provoque l'expulsion du solvant de la matrice polymère et le réseau s'effondre sur lui-même. La température caractéristique de cette transition est alors appelée VPTT (Volume Phase Transition Temperature).

#### **I.4.2. Les hydrogels sensibles au pH**

Les hydrogels sensibles au pH se comportent comme des hydrogels chargés dont la théorie est décrite dans la partie I.3.2. Le levier pour une réponse à une variation de pH provient des groupements ionisables sur les chaînes polymères, dont l'état de charge dépend du pH. Lorsque ces groupements ne sont pas ionisés, les hydrogels se comportent comme des hydrogels neutres. Mais lorsque le pH favorise la forme ionisée, les interactions répulsives entre les charges et la pression osmotique engendrée par les contre-ions dans le réseau (effet Donan) permettent au réseau d'atteindre des taux de gonflement plus élevés que leurs homologues neutres. Plus la densité de charge est élevée, plus l'hydrogel est gonflé. En revanche la présence d'électrolyte dans la solution provoque la diminution du taux de gonflement des microgels par différence de pression osmotique, écrantage des charges ou déshydratation des polymères, lorsque les concentrations en sel sont importantes.<sup>16-18</sup> Les groupements du type acide ou base faible, tels que les fonctions acides carboxyliques ou amines, permettent d'obtenir des hydrogels sensibles au pH. Par exemple, pour les hydrogels constitués de fonctions acides carboxyliques, le gonflement va augmenter en fonction du pH. En effet, lorsque le pH est inférieur au pKa, les groupements acides sont dans leur état protoné, et donc neutre. En revanche, lorsque le pH est supérieur au pKa, la forme prédominante est la forme chargée. Le taux de gonflement de l'hydrogel va ainsi augmenter jusqu'à atteindre son nouvel état d'équilibre.

### I.4.3. Les hydrogels sensibles au glucose

Il existe quatre familles de récepteurs au glucose qui peuvent être utilisés pour rendre un hydrogel sensible au glucose :<sup>19</sup>

- la glucose oxydase ;
- la concanavaline A ;
- les protéines de liaison au glucose ;
- l'acide phénylboronique et ses dérivés.

Les trois premières familles sont des récepteurs naturels du glucose tandis que l'acide phénylboronique est synthétique. Dans cette partie, nous détaillerons uniquement le mécanisme de reconnaissance de l'acide phénylboronique, car c'est le ligand que nous avons sélectionné pour réaliser nos études : des travaux antérieurs dans le laboratoire ont permis d'acquérir une certaine expertise avec ce ligand. De plus, il est majoritairement utilisé pour la formulation de gels sensibles au glucose.

L'acide phénylboronique et ses dérivés sont connus et bien décrits dans la littérature pour leur faculté à former des esters cycliques avec les espèces de type polyol en milieu aqueux.<sup>20</sup> Ils réagissent avec les diols 1,2 ou 1,3 pour former des esters cycliques à 5 ou 6 membres. Les acides boroniques sont caractérisés par l'équilibre entre leur forme neutre (acide) et leur forme chargée (basique). Une quantité équivalente de chacune des formes coexiste lorsque le pH est égal au pKa de cette espèce. Lorsque le pH est inférieur au pKa, la forme neutre de l'acide boronique (Figure I. 2 (1)) sera majoritaire. Une molécule d'eau est liée à cette espèce de configuration électronique  $sp^2$ . A pH plus élevé, l'eau se déprotone et s'y associe pour former un boronate chargé (2). Une fois cette liaison faite, l'environnement électronique de l'atome de bore passe de la configuration électronique  $sp^2$  à la configuration  $sp^3$ , ce qui se traduit par une modification géométrique de la configuration spatiale de trigonal plan à tétraédrique. La configuration de la forme chargée favorise la formation d'un complexe avec le groupement diol des saccharides (3) en position cis selon une réaction de condensation. En effet, en configuration  $sp^2$ , les acides boroniques présentent un angle de  $120^\circ$  qui est réduit à  $108^\circ$  lors de la formation de l'ester. Cette compression de l'angle favorise la déprotonation pour adopter une configuration  $sp^3$ . Ainsi, la formation d'un ester par complexation rend le bore plus acide, ce qui diminue le pKa du système.



Le mécanisme de complexation entre l'acide phénylboronique et le glucose se résume selon le schéma de la Figure I. 2. Pour un pH voisin du pKa de l'acide phénylboronique, l'ajout de glucose va déplacer l'équilibre vers la forme chargée de l'ester. De ce fait la densité de charges dans la matrice augmente provoquant le gonflement du réseau. C'est la modification de la densité de charges dans la matrice polymère qui est à l'origine du gonflement.<sup>21</sup>

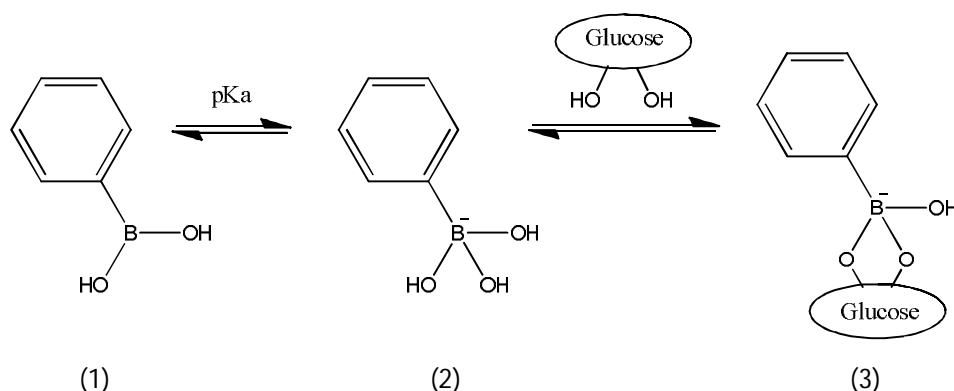


Figure I. 2 : Mécanisme de complexation du glucose par les acides phénylboroniques.

Cependant la détection du glucose n'est pas sélective, car l'acide phénylboronique peut également complexer d'autres polyols comme le fructose ou le galactose. Parmi les monosaccharides, le fructose est bien mieux complexé que le glucose, car sa constante d'association est plus élevée.<sup>20,22</sup>

Les microgels sensibles au glucose présentés dans la littérature sont formulés à partir de polymères thermosensibles et d'un dérivé de l'acide phénylboronique. Dans la littérature, il existe deux voies différentes pour préparer ces microgels. La première, utilisée par l'équipe de Pelton et l'équipe de Zhou, consiste à fonctionnaliser les microgels avec un récepteur au glucose une fois qu'ils sont synthétisés et purifiés.<sup>23,24</sup> La synthèse est donc réalisée en deux étapes. La deuxième méthode, choisie par notre équipe, permet la préparation des microgels en une seule étape en copolymérisant des monomères de type N-alkylacrylamide avec des monomères qui possèdent la fonction acide phénylboronique.<sup>25</sup> Les deux voies conduisent à la synthèse de microgels, dont le taux de gonflement dépend de la concentration en glucose dans le milieu.

## **I.5. Influence de la taille des hydrogels**

Les notions des sections précédentes ont été décrites pour des gels macroscopiques, dont la classification s'effectuait selon la nature de la réticulation, la présence de charge sur les chaînes ou le caractère stimuable du réseau. Cependant, une autre façon de classer les hydrogels s'articule autour de leur taille. Selon la nomenclature IUPAC, les hydrogels peuvent être identifiés comme :

- macrogels si leur taille est de l'ordre du millimètre ou plus
- microgels pour une taille variant entre 100 nm et 100  $\mu$ m
- nanogels, si la taille du réseau oscille entre 1 nm et 100 nm.

Les nano/microgels possèdent de nombreuses propriétés communes avec leurs homologues macroscopiques mais leur dynamique de gonflement est très différente. En effet, les variations volumiques d'un hydrogel en réponse à un stimulus mettent en jeu des phénomènes cinétiques qui dépendent de la diffusion du solvant à travers le réseau, mais aussi de la dynamique de relaxation du réseau. Il a été montré par Tanaka que le temps caractéristique de relaxation du réseau est proportionnel au carré de sa longueur caractéristique.<sup>26</sup> Les nano/microgels ont donc une réponse à un stimulus bien plus rapide que les macrogels.

## **II. Synthèse et propriétés des microgels de poly(NIPAM)**

Les particules colloïdales d'hydrogels, aussi appelées nanogels ou microgels, ont des propriétés similaires à celles de leurs homologues macroscopiques. Il existe également différents stimuli, dont les plus étudiés sont la température,<sup>27,28</sup> le pH,<sup>29,30</sup> les champs électromagnétiques<sup>31,32</sup> et les biomolécules.<sup>25,33</sup> Dans la suite de ce manuscrit nous allons nous focaliser sur les microgels thermosensibles et plus particulièrement ceux à base de poly(NIPAM), car ils sont utilisés dans chaque étude présentée dans ce manuscrit. Nous présenterons dans un premier temps des éléments relatifs à la synthèse des microgels, puis dans un second temps leurs propriétés en solution.

## II.1. Synthèse de microgels de poly(NIPAM)

Il existe deux voies différentes pour préparer les microgels. La première, appelée top-down consiste à broyer un macrogel pour former des entités plus petites. Cette voie n'est pas utilisée, car elle ne permet pas d'obtenir des microgels de taille et de forme régulière. La seconde voie est appelée bottom-up ; elle consiste à synthétiser les particules à partir de molécules ou de macromolécules. Cette voie englobe plusieurs méthodes comme la polymérisation en émulsion,<sup>34,35</sup> la polymérisation par précipitation<sup>36,37</sup> et la réticulation de polymères auto-assemblés<sup>38,39</sup> ou de polymères en milieu confiné.<sup>40,41</sup> La polymérisation par précipitation est la méthode majoritairement utilisée dans la littérature pour la préparation de microgels thermosensibles. Elle est simple à mettre en œuvre (une unique phase aqueuse) et permet d'obtenir une population de microgels ayant une distribution de taille étroite. Dans la suite de ce manuscrit nous allons donc nous focaliser sur cette technique.

### II.1.1. Principe

Cette méthode de synthèse a été rapportée pour la première fois en 1986 par Pelton et Chibante dans le cas des microgels de poly(NIPAM). Elle fut alors baptisée : polymérisation en émulsion sans tensioactif (SFEP pour Surfactant Free Emulsion Polymerization).<sup>36</sup> Ce nom, encore utilisé aujourd'hui, est source de confusion. En effet, la polymérisation en émulsion s'applique à des monomères, très peu solubles ou insolubles dans l'eau, dispersés sous forme de gouttes dans l'eau à l'aide d'un tensioactif ou par agitation. Avant même le début de la réaction, le milieu est diphasique. A l'inverse, la polymérisation par précipitation est une polymérisation en dispersion pour laquelle le milieu est monophasique au départ, car les monomères et l'amorceur sont solubles dans la phase continue. Les oligomères créés en début de polymérisation sont également solubles dans l'eau jusqu'à ce qu'ils atteignent une taille critique. Au-delà de cette taille, ils deviennent insolubles et précipitent pour former des particules.

Les microgels à base de poly(NIPAM) ont été les premiers exemples de particules sphériques et monodisperses obtenues selon le procédé de polymérisation par précipitation en solution aqueuse sans tensioactif. Dans cette méthode, le NIPAM et le réticulant (généralement le N,N'-méthylène bisacrylamide(BIS)) sont dissouts dans l'eau. Le mélange est chauffé à une température supérieure à la LCST du polymère et dégazé par bullage d'azote afin de retirer l'oxygène dissout

dans l'eau. Un amorceur (généralement du persulfate de potassium ou d'ammonium) capable de se décomposer en radicaux sous l'effet de la température est ajouté dans un second temps. Lorsque les chaînes en croissance atteignent une longueur critique, elles précipitent, car la température est supérieure à la LCST du poly(NIPAM), et forment les précurseurs des particules.<sup>42</sup> Les nucléi poursuivent alors leur croissance par addition de monomères, par agrégation avec d'autres précurseurs, par capture d'autres oligoradicaux ou par agrégation à la surface de particules en croissance. Le réticulant assure les liaisons intermoléculaires. La Figure I. 3 résume les différentes étapes de la polymérisation par précipitation.

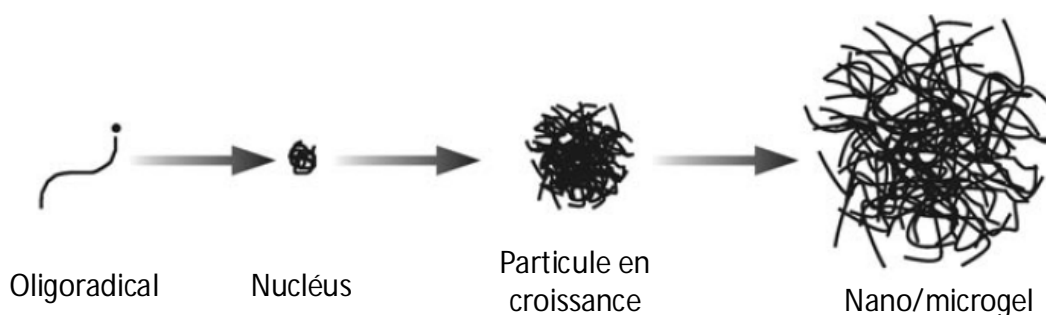


Figure I. 3 : Schéma récapitulatif des différentes étapes de la polymérisation par précipitation. Adapté de <sup>42</sup>.

La taille finale des microgels est atteinte lorsque les microgels sont stables d'un point de vue colloïdal. Cette stabilité colloïdale est assurée par les charges de surface, provenant de l'amorceur ou d'un additif (tensioactifs, monomères, ...). Une densité surfacique minimum de charges est nécessaire pour assurer cette stabilité. Ainsi, moins le système est chargé, plus la taille des microgels contractés est grande, car le rapport surface/volume est plus petit.

### II.1.2. Contrôle de la taille par ajout de tensioactifs

La taille finale des objets est fixée par la densité surfacique de charge des nucléi formés lors de la précipitation. Plus la taille des objets est petite, plus le rapport surface/volume est grand. Il est alors nécessaire d'introduire plus de charges pour stabiliser des objets plus petits. L'ajout de tensioactif peut renforcer le rôle de l'amorceur pour stabiliser les particules en croissance et éviter l'agrégation avec d'autres précurseurs. Dans le but de diminuer la taille des

objets il est nécessaire d'ajouter des tensioactifs dans le mélange réactionnel pour stabiliser les particules en croissance et éviter la croissance par agrégation avec d'autres précurseurs.

Les premiers travaux visant à diminuer la taille des microgels ont été effectués par l'équipe de Pelton sur des microgels de poly(NIPAM).<sup>43,44</sup> L'ajout de dodécylsulfate de sodium (SDS) avant l'amorçage de la polymérisation permet de diminuer jusqu'à 10 fois le diamètre des particules lorsque la concentration en tensioactif est de 0,58 g/l (cf Figure I. 4). Au-delà de cette concentration, le diamètre des microgels ne diminue plus. La diminution de la taille des microgels s'explique par le fait que les molécules tensioactives ioniques vont s'adsorber sur les particules de polymère en croissance. Ainsi les nucléi en formation auront une charge de surface plus importante ce qui leur confère une meilleure stabilité colloïdale, empêchant ainsi la croissance par agrégation de particules. La concentration de particules en croissance en solution est donc augmentée. Plus cette dernière augmente, plus le diamètre final des microgels sera petit.

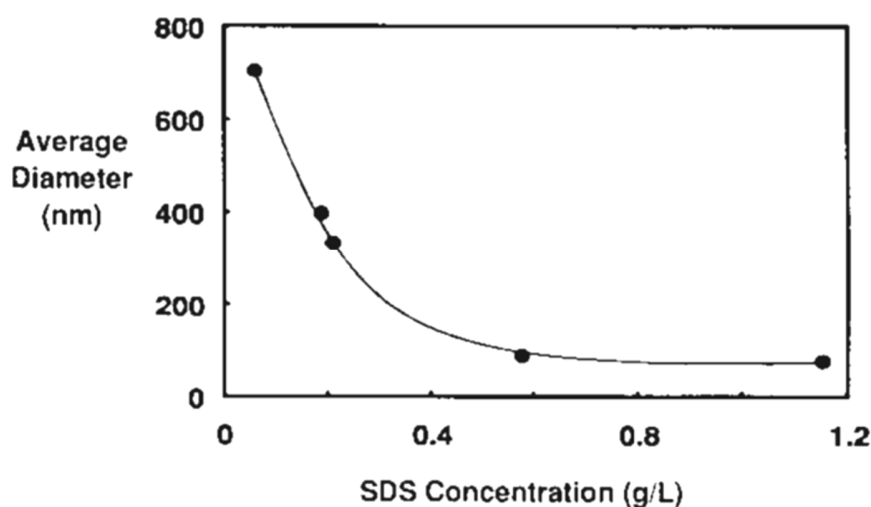


Figure I. 4 : Evolution du diamètre des microgels à 25°C en fonction de la concentration en SDS. Adapté de <sup>43</sup>.

### II.1.3. Structure des microgels

Dans le but de comprendre le lien entre la structure des microgels et leurs propriétés, de nombreux groupes ont essayé de déterminer la structure interne des microgels. L'étude de microgels synthétisés par polymérisation par précipitation en « batch » (où l'ensemble des

réactifs est introduit simultanément en début de synthèse) présente une répartition inhomogène des constituants. La première étude réalisée par Wu *et al.* présente les taux de conversion du NIPAM et du BIS au cours de la synthèse.<sup>44</sup> Ils constatent que la consommation du réticulant est plus rapide que celle du NIPAM et en concluent logiquement que les particules synthétisées sont plus réticulées au centre qu'en périphérie. Par la suite, ces résultats ont été confirmés par diffusion de la lumière,<sup>45,46</sup> diffusion de neutrons aux petits angles,<sup>47-50</sup> ou encore par résonance magnétique nucléaire du proton (RMN).<sup>51</sup> Bien que toutes les études soient en accord avec le caractère cœur-écorce des microgels, le débat sur la structure fine reste encore ouvert.<sup>52</sup> Les deux structures hypothétiques de type cœur-écorce sont présentées Figure I. 5. Le premier cas prend en compte le phénomène d'aggrégation de particules en croissance lors de la synthèse et présente donc un cœur et une écorce localement inhomogène. Dans le second, le cœur et l'écorce sont homogènes mais possèdent des tailles de mailles différentes. Dans les deux cas, la frontière entre le cœur et l'écorce n'est certainement pas aussi bien définie que sur la Figure I. 5, la structure du microgel évolue probablement de manière continue du centre vers la périphérie.<sup>50</sup>

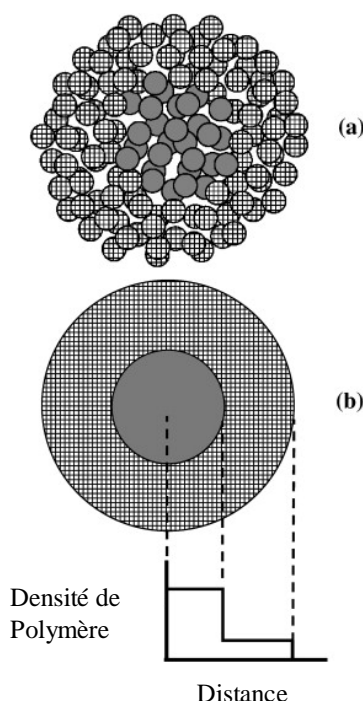


Figure I. 5 : Schéma représentatif des architectures proposées pour les microgels de poly(NIPAM) synthétisés en batch par polymérisation par précipitation. Adapté de <sup>52</sup>.

Ces études ont également mis en évidence que l'utilisation de tensioactifs ou la synthèse en « semi-batch » (où une partie des réactifs est introduite progressivement dans le réacteur pendant la synthèse), favorisent la production de microgels avec une structure plus homogène.<sup>45,53</sup>

#### II.1.4. Introduction de co-monomères

En vue de moduler la sensibilité à la température, de conférer des sensibilités additionnelles ou d'introduire des groupes réactionnels, un troisième co-monomère (en plus du NIPAM et du réticulant) est souvent introduit lors de la synthèse. Le tableau ci-dessous répertorie les différents types de co-monomères rapportés dans la littérature ainsi que l'intérêt de leur incorporation au sein de la matrice polymère.

Tableau I. 1 : Tableau récapitulatif des différents types de co-monomères copolymérisés avec le NIPAM.

Type de co-monomère	Intérêt de leur introduction	Réf(s)
Dérivé de l'acide phénylboronique	Sensibilité au glucose	25,54,55,56,
Amine	Sensibilité au pH	57,58,59
	Post-fonctionnalisation	60,61,62
Acide carboxylique		
		Sensibilité au pH
Monomère fluorescent	Propriétés de fluorescence	67,68,69
Ether couronne	Sensibilité aux ions métalliques	70,71,72
N-alkylacrylamide	Modification de la VPTT	67,73,74

L'incorporation d'un nouveau co-monomère dans les microgels n'est pas toujours évidente. En effet, le rapport de réactivité entre les co-monomères, le NIPAM et le BIS ne permet pas toujours d'atteindre le taux d'incorporation désiré. Dans certains cas extrême, il est possible que les conditions de synthèse ne permettent pas la formation de microgels ou de microgels avec une faible distribution de taille. Cette différence de réactivité peut également être à l'origine d'une distribution particulière du co-monomère dans le microgel. Par exemple, les travaux de

l'équipe de Pelton ont permis de mettre en évidence la distribution des acides carboxyliques dans la matrice polymère en fonction du monomère utilisé.<sup>66,75-77</sup> L'étude du comportement des microgels en fonction de la température leur a permis de déterminer la localisation des acides carboxyliques lorsque le NIPAM est copolymérisé avec l'acide acrylique (AAc), l'acide méthacrylique (MAA) ou encore l'acide vinylacétique (VAA) (cf Figure I. 6).

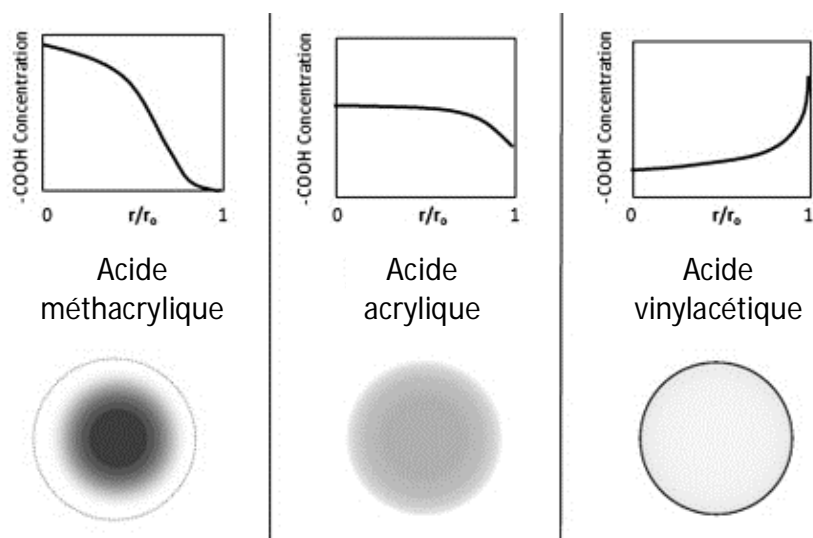


Figure I. 6 : Evolution de la concentration en acide carboxylique en fonction du rayon des microgels et schéma illustratif de leur localisation dans la matrice. Les zones noires représentent une concentration importante d'acide et les zones blanches une concentration nulle. Adapté de <sup>77</sup>.

De nombreuses difficultés sont également rencontrées lors de l'incorporation de monomères chargés dans les microgels. En effet, la présence de charges rend les polymères plus hydrophiles, ce qui perturbe la précipitation des nucléi lors de la synthèse. L'équipe de Richtering a mis en évidence que la majorité des acides méthacryliques copolymérisés avec le NIPAM se situe dans les polymères linéaires éliminés lors de l'étape de purification.<sup>78</sup> Le taux d'incorporation dans les microgels est environ 6 fois plus important lorsque la synthèse est effectuée à pH 3, lorsque les acides carboxyliques ne sont pas chargés, que lorsqu'elle est effectuée à pH 10. L'équipe de Lyon a également mis en évidence que les répulsions électrostatiques peuvent également limiter l'incorporation d'un monomère porteur d'une amine primaire.<sup>79</sup> Leurs travaux ont permis de montrer que l'incorporation de l'amine n'est possible qu'en présence de sel dans le milieu réactionnel, ou lorsque la dégradation thermique de l'amorceur génère l'apparition de charges



négatives. Dans ces conditions les répulsions électrostatiques sont diminuées, ce qui permet l'incorporation du co-monomère chargé. Cependant, une concentration trop élevée favorise l'agrégation des microgels en croissance et ne permet pas la formation de microgels monodisperses.<sup>79</sup>

## II.2. Propriétés des microgels en solution

Dans cette partie nous allons aborder les propriétés des microgels de poly(NIPAM) en solution. Nous parlerons dans un premier temps du gonflement des microgels en fonction de la température et des différents paramètres ayant un impact sur cet état de gonflement. Nous aborderons ensuite les propriétés des microgels en solution diluée et concentrée avant de conclure sur leur caractère déformable.

### II.2.1. Gonflement des microgels et transition de phase volumique

Comme pour les hydrogels neutres l'état de gonflement d'un microgel de poly(NIPAM) est gouverné à la fois par l'affinité polymère-solvant (s'exprimant par le paramètre de Flory) et par la densité de réticulation du réseau. En dessous de la VPTT (32°C), les interactions polymère-solvant sont plus favorables que les interactions polymère-polymère, les microgels sont alors gonflés par le solvant. Une élévation de la température au-dessus de la VPTT provoque la contraction des microgels. Dans ce cas les affinités polymère-polymère sont plus favorables provoquant ainsi la déshydratation du réseau et l'effondrement de la matrice sur elle-même : les microgels se contractent (cf *Figure I. 7*).

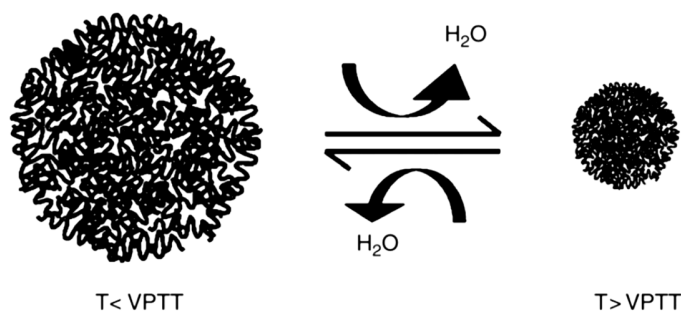


Figure I. 7 : Schéma des microgels gonflés en dessous de la VPTT et contractés au-dessus de la VPTT. Extrait de <sup>80</sup>

Dans des conditions de solvant fixées, le gonflement des microgels de poly(NIPAM) neutre est principalement contrôlé par l'élasticité du réseau polymère lié à son taux de réticulation. Comme le prévoit la théorie de Flory, l'augmentation de la densité de réticulant permet de diminuer le taux de gonflement, et donc la taille de ces microgels en dessous de la VPTT (cf Figure I. 8).<sup>43,81</sup> Plus la fraction massique de réticulant sera élevée, plus la contribution élastique qui s'oppose au gonflement du réseau sera importante, puisque les points de réticulation seront plus nombreux. En revanche, la température de transition de phase reste globalement inchangée, mais le domaine de température sur lequel elle a lieu est d'autant plus large que la concentration en réticulant est élevée.

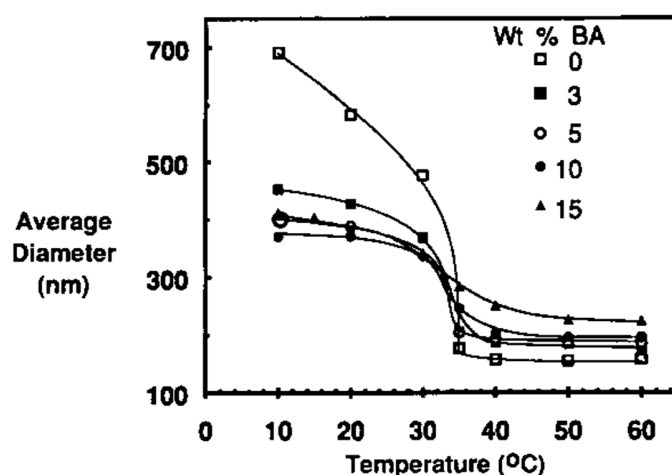


Figure I. 8 : Evolution du diamètre de microgels de poly(NIPAM) en fonction de la température et du pourcentage massique de réticulant. Extrait de <sup>43</sup>.

#### *Modulation de la VPTT par modification de l'affinité polymère-solvant*

La modification des affinités entre les polymères et le solvant est l'un des leviers pour modifier la température de transition des microgels. Dans la littérature, d'autres monomères dont la structure est proche de celle du NIPAM, sont utilisés pour synthétiser des microgels thermosensibles ayant des VPTT différentes, car les affinités avec l'eau sont différentes. Citons par exemple le N-isopropylmethacrylamide (NIPMAM),<sup>27</sup> le N-n-propylacrylamide (NNPAM),<sup>82</sup> ou le N-ethylmethacrylamide (NEMAM),<sup>83</sup> dont les microgels correspondants ont des VPTT respectivement de 45 °C, 20°C et 65 °C (Figure I. 9). Une légère modification de la structure

chimique a un grand impact sur les interactions avec le solvant, entraînant ainsi la modification de la VPTT des microgels formés.

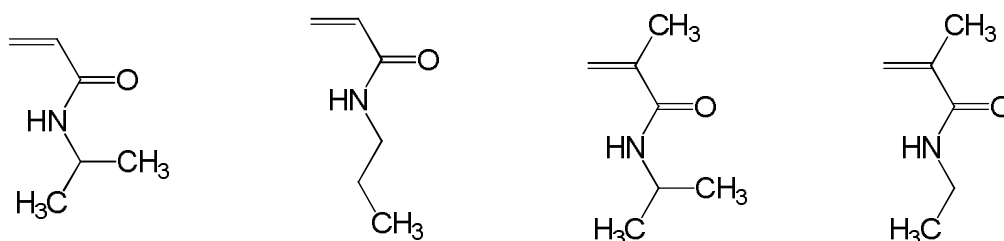


Figure I. 9 : Structure chimique du NIPAM, NNPAM, NIPMAM et du NEMAM

La copolymérisation de deux monomères thermosensibles permet également de modifier la VPTT des microgels. Par exemple, Iwai *et al.*<sup>67</sup> ont étudié le comportement de microgels contenant soit du NNPAM et du NIPAM soit du NIPAM et du NIPMAM. Dans chaque cas, plusieurs compositions en monomère ont été testées ce qui leur a permis de mettre en évidence que la VPTT des microgels coïncide avec la valeur estimée grâce à la loi d'additivité des propriétés. La copolymérisation de deux de ces trois monomères permet d'obtenir des microgels avec une VPTT comprise entre 20 °C et 45 °C en fonction de la composition. Cependant, la loi d'additivité des propriétés n'est pas valable pour tous les couples de monomères thermosensibles. En effet, les travaux de l'équipe de Richtering<sup>73</sup> sur la copolymérisation du NIPAM et du N,N-diéthylacrylamide (DEEAM) ont permis de mettre en évidence que l'évolution de la VPTT des microgels de poly(NIPAM-co-DEEAM) n'a pas une évolution monotone. Selon les auteurs, la formation de liaisons hydrogène entre les deux monomères serait à l'origine de ce comportement.

L'incorporation de segments hydrophiles ou hydrophobes dans les microgels permet de changer les affinités avec le solvant conduisant à une modification de la VPTT. Par exemple, l'incorporation d'un monomère hydrophobe, le ter-butyl acrylamide (TBAM) dans les microgels de poly(NIPAM) a pour effet de diminuer la VPTT.<sup>84</sup> C'est également le cas des dérivés de l'acide phénylboronique, très utilisés pour la détection du glucose en solution, qui peuvent être introduits dans les microgels soit par greffage,<sup>23,24</sup> soit par copolymérisation.<sup>25</sup>

*Cas des microgels de poly(NIPAM) chargés*

Le comportement des microgels sensibles au pH est régi par la théorie de Flory des hydrogels de polyélectrolytes (cf partie I.4.2). Le levier pour une réponse à une variation de pH provient de la présence de groupements ionisables dans le réseau, dont l'état d'ionisation est fixé par le pH. En général il s'agit de groupements de type acide ou base faible, tels que des acides carboxyliques (comme l'acide acrylique,<sup>17,75</sup> l'acide méthacrylique,<sup>85,86</sup> ou l'acide vinylacétique<sup>66,87</sup>), des amines,<sup>60,88,89</sup> ou encore la vinylpyridine.<sup>90,91</sup>

Les travaux de Kratz *et al* ont permis de mettre en évidence que la présence d'acide acrylique dans les microgels décale la VPTT de quelques degrés Celsius. De plus, cette dernière s'étend sur un domaine de température plus large.<sup>17</sup> Les répulsions électrostatiques s'opposent à la contraction du réseau et peuvent même provoquer une transition de phase en deux temps lorsque la composition molaire en acide acrylique est élevée (cf Figure I. 10).

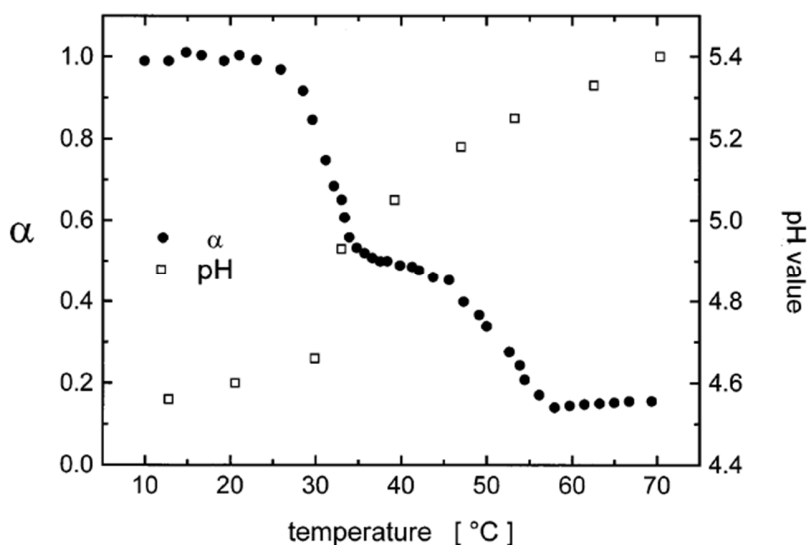


Figure I. 10 : Evolution du taux de gonflement des microgels contenant 12,5%mol d'acide acrylique et du pH de la solution en fonction de la température.Extrait de<sup>17</sup>.

La première transition correspond à la VPTT du microgel et provoque l'expulsion de l'eau. De ce fait, la constante diélectrique diminue ce qui renforce les répulsions électrostatiques. L'évolution du pH indique que les protons migrent dans les microgels permettant soit d'écranter

les répulsions électrostatiques, soit de diminuer le taux de charges par protonation des ions carboxylates. La distribution des groupes ionisés dans la matrice a un impact sur le gonflement des microgels et donc sur leur transition de phase volumique.<sup>92</sup>

Le comportement des microgels chargés est beaucoup plus complexe lorsqu'ils ont un caractère polyampholyte. La présence de charges positives et négatives au sein de la même matrice polymère ajoute des interactions attractives qui modifient le taux de gonflement des microgels ainsi que leur stabilité colloïdale.<sup>93,94</sup>

### **II.2.2. Propriétés des suspensions de microgels dilués**

Une propriété remarquable des microgels en solution est leur stabilité en solution. Pour des microgels de poly(NIPAM), la stabilité dépend de l'équilibre entre les interactions attractives (interactions de Van der Waals) qui sont responsables du phénomène d'agrégation et les interactions répulsives (électrostatiques ou stériques) qui s'y opposent. Le taux de gonflement des microgels a un impact non négligeable sur chacune de ces contributions.

En dessous de la VPTT, les microgels de poly(NIPAM) sont gonflés et la fraction volumique d'eau est très grande. La constante de Hamaker des microgels est donc très proche de celle de l'eau. Cette dernière étant faible, l'attraction de Van der Waals entre les microgels est donc négligeable.<sup>11,52</sup> En ce qui concerne la contribution électrostatique, les seules charges présentes dans le réseau sont celles issues de la décomposition de l'amorceur. Des mesures de mobilité électrophorétique des microgels révèlent un état de charge surfacique très faible quelle que soit la force ionique du solvant.<sup>37,95</sup> De plus l'ajout de sel à la dispersion ne provoque pas l'agrégation des particules, la stabilité n'est donc pas uniquement due aux répulsions électrostatiques.<sup>36</sup> La stabilisation est donc principalement d'ordre stérique et provient des chaînes pendantes en bon solvant à la surface des microgels.

Au-dessus de la VPTT, les microgels se contractent, les molécules d'eau sont expulsées du réseau mais la stabilité colloïdale est toujours assurée. Lors de la contraction, la fraction volumique de polymère croît ce qui provoque l'augmentation de la constante de Hamaker. Les interactions attractives de Van der Waals sont donc plus fortes qu'à basse température. Les chaînes pendantes se désolvatent et n'assurent plus la stabilisation stérique des particules.

Néanmoins, lors de la contraction, la densité surfacique de charge augmente car le nombre de charges est identique alors que la taille des microgels diminue. Les répulsions électrostatiques entre particules sont alors renforcées. L'ajout de sel dans le milieu est susceptible de provoquer l'agrégation des microgels, ce qui confirme l'origine électrostatique de la stabilisation dans l'état contracté.<sup>36,96</sup>

La stabilité et l'état de gonflement des microgels sont régis par la thermodynamique. Toute variation de la température, du pH ou de la force ionique du solvant modifie les conditions d'équilibre et peut provoquer des transitions abruptes de gonflement ou de l'état de dispersion.

### **II.2.3. Propriétés des suspensions de microgels concentrées**

#### *Formation de cristaux colloïdaux*

En solution concentrée, les microgels ont la faculté de former des phases ordonnées et périodiques thermodynamiquement stables. Le premier exemple d'organisation bidimensionnelle est rapporté par Pelton.<sup>97</sup> L'étude au microscope électronique à balayage prouve que les microgels forment un arrangement cristallin dont la distance entre particules est constante. Cette distance correspond à leur diamètre hydrodynamique dans l'état gonflé.<sup>98</sup> En 3D, l'apparition d'une phase structurée induit des propriétés optiques comme la diffraction de Bragg. L'équipe de Lyon rapporte l'apparition d'une iridescence ainsi qu'une augmentation de la viscosité, lorsque la fraction volumique de microgels dépasse 0,55.<sup>99,100</sup> Lorsque le cristal colloïdal est chauffé au-delà de la VPTT des microgels, les auteurs constatent la disparition de l'iridescence provoquée par la rupture de la structure cristalline. Cependant la transition est réversible, car après diminution de la température, les microgels s'auto-organisent à nouveau. En revanche, une faible variation de température autour de la VPTT modifie la diffraction de Bragg et donc la couleur émise par le réseau.<sup>101</sup> La température à laquelle est préparé le cristal colloïdal permet également de contrôler la distance interparticule et donc la couleur diffractée.<sup>101</sup>

#### *Rhéologie des solutions concentrées*

Contrairement aux polymères linéaires en solution, les microgels ne peuvent pas s'interpénétrer totalement. Ainsi, au-delà d'une certaine concentration, les microgels sont donc stériquement confinés par leurs voisins. Steigler *et al* rapportent que les microgels forment des

dispersions visqueuses qui s'apparentent à des gels pour des concentrations élevées.<sup>49,102</sup> Ces solutions concentrées se comportent comme des fluides rhéofluidifiants, mais ce caractère s'estompe avec la température (cf Figure I. 11).

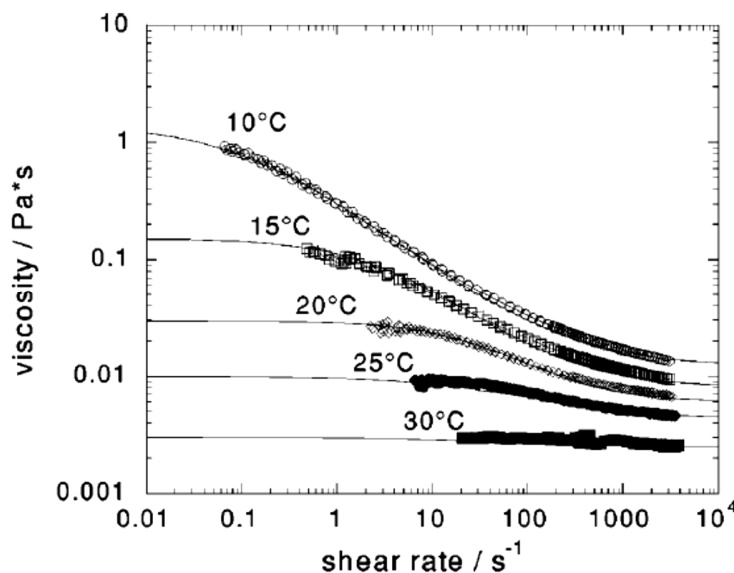


Figure I. 11 : Evolution de la viscosité d'une solution de poly(NIPAM) en fonction du taux de cisaillement et de la température. Extrait de <sup>102</sup>.

Lorsque les microgels se contractent, la distance entre particules augmente. Les microgels sont donc moins confinés stériquement, ce qui entraîne la diminution de la viscosité du système. D'autres équipes ont également étudié l'influence de la température sur les propriétés rhéologiques.<sup>28,103</sup> Ces études ont permis de montrer qu'une élévation de la température était également responsable de la diminution des propriétés viscoélastiques. En effet, le module élastique diminue d'un facteur 10 lorsque la température augmente de 28 °C à 50 °C.

Le comportement des microgels sensibles au pH a également été étudié en fonction de l'état d'ionisation des fonctions acides carboxyliques incorporées dans la matrice.<sup>104</sup> Les effets sont similaires à ceux observés avec la température. Dans ce cas, la transition entre le comportement fluide et le comportement visqueux n'est pas régie par la température mais par le pH.

## II.2.4. Déformabilité des microgels

Une des propriétés qui différencie les solutions de microgels des suspensions de particules dites « dures » est leur grande capacité à se déformer. Une première preuve de cette déformabilité a été observée par Pelton *et al.*<sup>36</sup> Les microgels adoptent une forme de « pancake » lorsqu'ils sont adsorbés à une surface solide. Ce phénomène est alors utilisé par l'équipe de Lyon, pour former un réseau de microlentilles capables de modifier leur indice de réfraction en fonction de la température ou du pH.<sup>105</sup> Plus récemment, l'étude du comportement des microgels aux interfaces liquides (liquide-liquide ou liquide-air), principalement menée dans le cadre des émulsions stabilisées par des microgels, a démontré la capacité des microgels à se déformer à l'interface, ceux-ci pouvant être aplatis dans certains cas, ou déformés perpendiculairement à l'interface dans d'autres cas.<sup>106,107</sup> Ces objets se distinguent donc fondamentalement des particules solides dont l'adsorption à l'interface est régie par les propriétés de mouillage. La déformabilité des microgels semble avoir un impact sur la capacité des microgels à stabiliser durablement des émulsions,<sup>108</sup> mais de nombreuses questions restent ouvertes sur le lien entre déformation des microgels et propriétés de l'interface.

Cette capacité à se déformer s'avère très intéressante pour des applications dans le domaine des biotechnologies, où le passage de polymères ou de nanoparticules à travers des petits orifices est un paramètre clef. Grâce à un dispositif simple, Hendrickson et Lyon ont démontré que des microgels de poly(NIPAM) contenant 2%mol de réticulant traversent des pores dont le diamètre est 10 fois plus petit que le diamètre hydrodynamique des particules.<sup>109</sup> Ce passage est observé lorsqu'une surpression d'environ 70 mm Hg est appliquée, ce qui est comparable à la surpression mesurée dans un rein humain pour expulser les impuretés du sang vers les urines. Plus récemment, la même équipe a réussi à établir un lien entre le temps nécessaire à traverser l'orifice et le mécanisme de passage.<sup>110,111</sup> Lorsque la surpression est plus élevée (150 mm Hg), les microgels traversent les pores plus rapidement, sans se déshydrater, contrairement aux faibles surpressions où le passage est lent et la déformation induit une déshydratation (cf Figure I. 12).



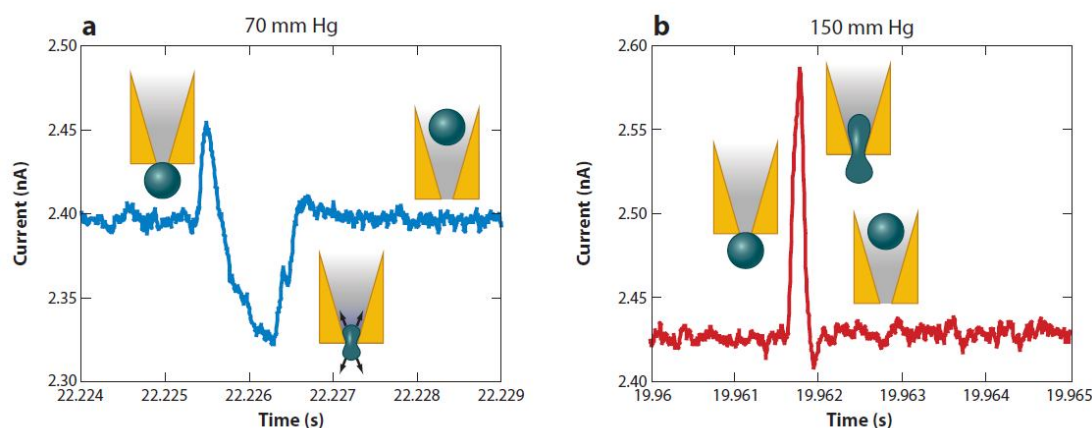


Figure I. 12 : Passage des microgels à travers un pore (a) avec une surpression de 70 mm Hg (b) ou de 150 mm Hg. Les variations de courant sont la preuve du passage des microgels à travers les pores et permettent de déterminer s'ils se déshydratent ou non. Extrait de <sup>112</sup>.

L'étude de la biodistribution *in vivo* d'hydrogels de taille comprise entre 0.8 et 8.9  $\mu\text{m}$  dans les organes de souris met également en évidence le caractère déformable de ces objets.<sup>113</sup> Après injection dans la circulation sanguine, les hydrogels s'accumulent dans les organes en fonction de leur taille. L'originalité de ces travaux réside dans le fait que certains organes sont capables de stocker des microgels pendant plusieurs dizaines d'heures puis de les relâcher.

### III. Microgels multifonctionnels

Le développement des applications des microgels passe par une modularité de leurs propriétés et notamment de leur fonctionnalité. Pour cela, différents matériaux ont été synthétisés, combinant les propriétés des microgels à celles des particules inorganiques, ou des microgels à des entités biologiques. Le contrôle de la structure interne des microgels est également un élément essentiel afin de leur conférer une réponse hiérarchique à différents stimuli. Dans cette partie, nous présenterons successivement les procédés mis en œuvre pour le contrôle de cette structure interne (des particules composées d'hydrogel uniquement), puis nous aborderons les microgels hybrides organiques-inorganiques, ainsi que les microgels conjugués à une biomolécule.

### **III.1. Contrôle des structures à base de gel**

#### **III.1.1. Microgels cœur-écorces**

D'une manière générale les microgels cœur-écorces peuvent être divisés en deux classes : celle dont le cœur est composé d'un matériau autre que des hydrogels avec une écorce d'hydrogel et celle dont le cœur et l'écorce sont composés d'hydrogels. Dans cette partie nous ne détaillerons que les microgels cœur-écorces entièrement composés d'hydrogels. Ces matériaux sont préparés par polymérisation par précipitation en deux étapes.<sup>29</sup> Dans un premier temps les cœurs sont synthétisés selon le même procédé que celui utilisé pour les microgels en batch. Après purification la solution de « cœur » sert de germes à une seconde étape de polymérisation. La solution est chauffée à 70 °C puis une solution de monomères est ensuite ajoutée avant d'amorcer la polymérisation. Cette méthode permet d'obtenir des microgels monodisperses puisque tous les oligomères formés dans la seconde étape précipitent sur les cœurs hydrophobes (car la température est supérieure à la VPTT) et constituent une écorce autour de ces derniers. Afin d'éviter l'apparition d'une nouvelle population, certains paramètres sont cruciaux comme la concentration des « cœurs », de l'amorceur, des tensio-actifs et des monomères qui formeront l'écorce. La concentration en monomère utilisée lors de la seconde étape permet également de contrôler l'épaisseur de l'écorce.<sup>54,114</sup> Par cette méthode, des microgels dont le cœur et l'écorce ont des structures ou des fonctionnalités différentes sont préparés. Cette stratégie permet la synthèse de microgels ayant plusieurs VPTT.<sup>29,114,115</sup> L'équipe de Richetring a étudié des microgels dont le cœur est composé de poly(NIPAM) et l'écorce de poly(NIPMAM).<sup>114,115</sup> Ces microgels ont la particularité d'avoir deux transitions de phase, l'une aux alentours de 32 °C (VPTT du poly(NIPAM)) et la seconde à 45 °C (VPTT du poly(NIPMAM)) (cf Figure I. 13).

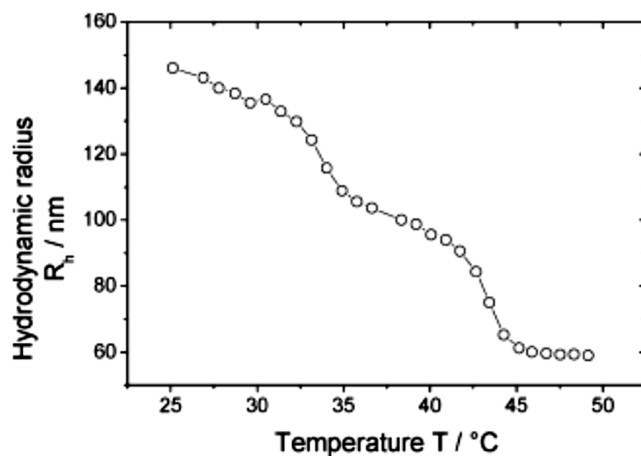


Figure I. 13 : Diamètre hydrodynamique en fonction de la température de microgels dont le cœur est composé de poly(NIPAM) et l'écorce de poly(NIPAM). Extrait de <sup>115</sup>.

Cependant lorsque la composition du cœur et de l'écorce des microgels précédents est inversée, les propriétés en fonction de la température sont modifiées.<sup>116</sup> Lorsqu'ils sont refroidis, les cœurs (dont la VPTT est de 45 °C) ne peuvent pas gonfler tant que la température n'est pas inférieure à la VPTT du poly(NIPAM). Le cœur est donc contraint de rester contracté à cause de la compression exercée par l'écorce. Des études plus approfondies par diffusion de neutrons aux petits angles<sup>115,116</sup> ou par analyse thermique différentielle<sup>117,118</sup> montrent que d'une manière générale l'écorce a un effet mécanique qui perturbe l'équilibre de gonflement thermodynamique du cœur. Cet effet varie en fonction de l'épaisseur de l'écorce<sup>119</sup> et de son taux de réticulation.<sup>120</sup> Il en résulte que l'épaisseur de l'écorce ne peut pas être calculée simplement à partir du diamètre des cœurs et du diamètre des microgels cœur-écorces.<sup>60</sup> Cette méthode de synthèse a permis à notre équipe de synthétiser des microgels cœur-écorces, dont l'écorce est sensible au glucose grâce à l'introduction d'un dérivé de l'acide phénylboronique dans cette dernière.<sup>54</sup>

### III.1.2. Capsules d'hydrogels

Les capsules d'hydrogels désignent des microgels qui ne possèdent pas de cœur. Elles sont uniquement constituées d'une écorce d'hydrogel en suspension dans un solvant. Il existe différentes techniques pour obtenir ces matériaux. La première, qui est également la plus utilisée, consiste à polymériser une écorce d'hydrogel sur un cœur sacrificiel. De nombreux cœurs

sacrificiels ont été utilisés avec succès : un cœur d'hydrogel réticulé par un réticulant susceptible d'être dégradé dans un second temps,<sup>121</sup> un cœur de polystyrène dissout dans le tétrahydrofur (THF),<sup>122</sup> un cœur de silice dissout par de l'acide fluorhydrique,<sup>123</sup> ou encore un cœur d'or dissout par du cyanure de potassium (KCN).<sup>124</sup> Cette technique de synthèse nécessite trois étapes différentes :

- la synthèse du cœur sacrificiel
- la synthèse de l'écorce d'hydrogels autour des cœurs
- la dissolution du cœur.

Une autre technique, quant à elle, peut être réalisée en une seule étape grâce à la polymérisation par précipitation « semi-batch ». <sup>125</sup> Une solution contenant uniquement du NIPAM est chauffée à 70 °C. La polymérisation est ensuite amorcée, permettant l'apparition d'oligoradicaux qui vont précipiter et former des agrégats stables. Une solution, contenant du NIPAM et le réticulant, est ensuite ajoutée goutte à goutte pour former l'écorce autour des polymères non réticulés. Une fois la solution refroidie, les polymères peuvent alors diffuser en-dehors de la matrice, où ils sont éliminés par des cycles de centrifugation-redispersion.

Les émulsions sont également de bons candidats pour être utilisées comme cœur sacrificiel pour la préparation de capsules. <sup>126</sup> Les précurseurs qui constitueront une écorce autour des gouttes de la phase dispersée sont dissouts dans la phase dispersante. L'inconvénient majeur de cette technique est que la taille des gouttes de la phase dispersée fixe la taille des capsules, ce qui ne permet pas d'obtenir des capsules aussi petites et aussi monodisperses que par les techniques rapportées précédemment. Dans le but de limiter la polydispersité des particules, l'équipe de Chu et celle de Weitz se servent de la microfluidique et des techniques de co-jetting. <sup>127,128</sup> Des émulsions doubles (huile/eau/huile) sont formées dans des canaux microfluidiques (cf Figure I. 14). Afin d'obtenir des capsules thermosensibles deux voies sont étudiées. La première consiste à injecter une phase aqueuse contenant des microgels de poly(NIPAM) et des alginates. Une fois la double émulsion formée, les gouttes tombent dans une solution de CaCl<sub>2</sub>, ce qui provoque la formation d'un gel physique avec les alginates, piégeant ainsi les microgels (cf Figure I. 14. a). Dans la seconde voie, des polymères linéaires de poly(NIPAM) modifiés avec des groupements photopolymérisables sont dissouts dans la phase aqueuse. <sup>129</sup> Après formation des gouttes, ces dernières sont exposées aux radiations UV pour réticuler chimiquement les macromolécules (cf

Figure I. 14. b). Le diamètre des capsules préparées est d'environ une centaine de  $\mu\text{m}$ , ce qui reste plus grand que celui des capsules synthétisées par les techniques de polymérisation par précipitation. La modification des débits de chacune des phases permet non seulement de contrôler l'épaisseur de l'écorce d'hydrogel, mais également d'obtenir des structures complexes comme des capsules multi-cœurs,<sup>129</sup> ou des capsules dissymétriques.<sup>130</sup>

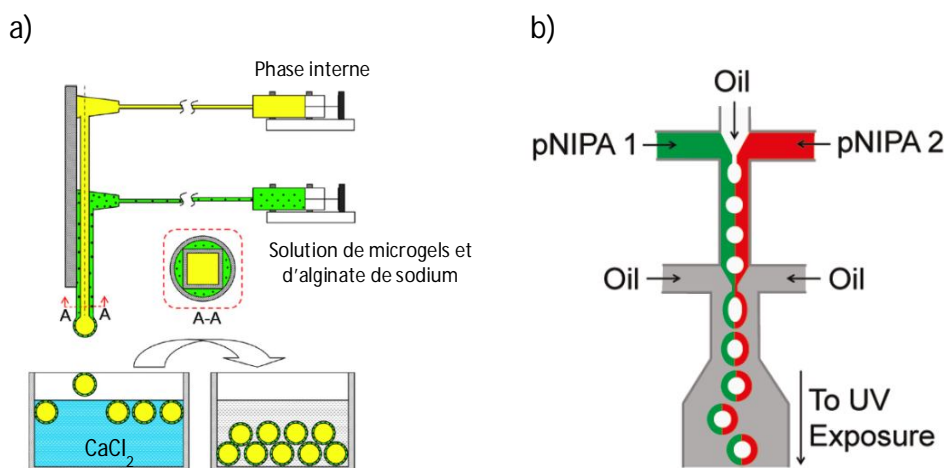


Figure I. 14 : Schéma des dispositifs microfluidiques. Le schéma a) représente le montage développé par l'équipe de Chu. La phase interne est injectée dans un microcanal de section carrée, qui se trouve dans un second canal circulaire dans lequel est injectée la solution d'alginate. A l'extrémité du canal, une goutte d'huile entourée d'une couche d'alginate se forme et tombe dans une solution de  $\text{CaCl}_2$  entraînant la réticulation des polymères. Les capsules sont ensuite stockées en solution. Le dispositif b) est développé par l'équipe de Weitz. La première jonction permet la formation de gouttes d'huile dans une solution aqueuse de poly(NIPAM) biphasique. Au niveau de la seconde jonction une double émulsion huile/eau/huile est créée pour former la structure des capsules. La structure est ensuite figée par réticulation des chaînes polymères lors de l'exposition aux UV. Adapté de <sup>127,130</sup>.

## III.2. Microgels fonctionnels

### III.2.1. Microgels composites

Les microgels composites peuvent avoir des structures différentes : soit ils contiennent de nombreuses nanoparticules, dont le diamètre est très inférieur à celui des microgels, soit les microgels sont composés d'un cœur inorganique et d'une écorce de microgel.

Dans le premier cas, deux approches distinctes sont utilisées pour incorporer les nanoparticules dans les microgels déjà formés. La première stratégie consiste à utiliser la matrice polymère comme gabarit pour la synthèse des nanoparticules. Ces dernières sont piégées dans la matrice

soit physiquement, soit par le biais de liaisons hydrogène ou d'interactions électrostatiques.<sup>64,131,132</sup> La seconde approche consiste à incorporer les nanoparticules préformées par diffusion dans les microgels. Les nanoparticules peuvent interagir avec les polymères par le biais de liaisons hydrogène ou d'interactions électrostatiques.<sup>133,134</sup> Cette technique a l'avantage d'être simple à mettre en place et permet un ajustement des propriétés des nanoparticules avant leur incorporation. Ces deux approches permettent de préparer une grande variété de microgels composites qui contiennent des polymères conducteurs,<sup>135,136</sup> des nanoparticules de métaux nobles,<sup>137,138</sup> d'oxyde métallique,<sup>139,140</sup> ou de semi-conducteurs.<sup>133,141</sup> Dans la plupart des cas, les microgels conservent leur sensibilité aux stimuli, mais ils possèdent également les propriétés physiques et chimiques des nanoparticules introduites comme le magnétisme, la conduction électrique ou encore la fluorescence.

La polymérisation par précipitation offre l'opportunité d'incorporer des nanoparticules pendant la synthèse des microgels. Les nanoparticules sont mises en suspension dans l'eau contenant le mélange de monomères précurseurs des microgels. A l'issue de cette synthèse, soit les nanoparticules sont piégées physiquement<sup>142</sup> dans la matrice polymère, soit elles se lient chimiquement au polymère par des liaisons covalentes<sup>143</sup> ou des liaisons hydrogène. Par cette approche il est également possible d'obtenir les mêmes types de matériaux que ceux cités précédemment.

Les structures du type cœur écorce avec un cœur inorganique sont obtenues généralement en plusieurs étapes qui sont : la préparation du cœur, un éventuel traitement de surface pour fixer des groupements polymérisables à la surface des nanoparticules et enfin la synthèse de l'écorce. D'une manière générale, ces structures sont intéressantes car elles permettent l'obtention de capsules par dissolution de la nanoparticule située au cœur.<sup>123,124</sup> Par cette méthode, des écorces de polymères sont préparées autour de nanoparticules de silice,<sup>123,144</sup> d'or,<sup>124,145</sup> ou de cœurs ayant une structure plus complexe comme des particules de silice enrobées d'or.<sup>145</sup>

### III.2.2. Microgels hybrides

Les microgels appelés hybrides sont en règle générale des microgels dont la structure contient des biomolécules. Ces dernières, étant sensibles aux conditions imposées par la polymérisation par précipitation (présence de radicaux, température), sont introduites dans un

deuxième temps. Pour cela les microgels sont synthétisés en présence d'une faible quantité de comonomère porteur d'acide ou de base. Ces fonctions sont ensuite utilisées pour greffer les biomolécules en question. De cette manière, l'équipe de Kawaguchi a développé des microgels thermosensibles fonctionnalisés par des enzymes.<sup>146,147</sup> Ces travaux montrent que les propriétés thermosensibles des microgels permettent de moduler l'activité de l'enzyme. Les chaînes, qui sont modifiées par l'enzyme, ont une transition de phase plus élevée (38 °C) que les chaînes de poly(NIPAM). Ainsi en dessous de 32 °C, les enzymes sont entourées de polymère, ce qui gêne la diffusion du substrat vers l'enzyme (cf Figure I. 15). Mais lorsque la température est comprise entre 32 °C et 38 °C les chaînes de poly(NIPAM) non fonctionnalisées sont sous forme de globules permettant ainsi au substrat d'atteindre librement l'enzyme.

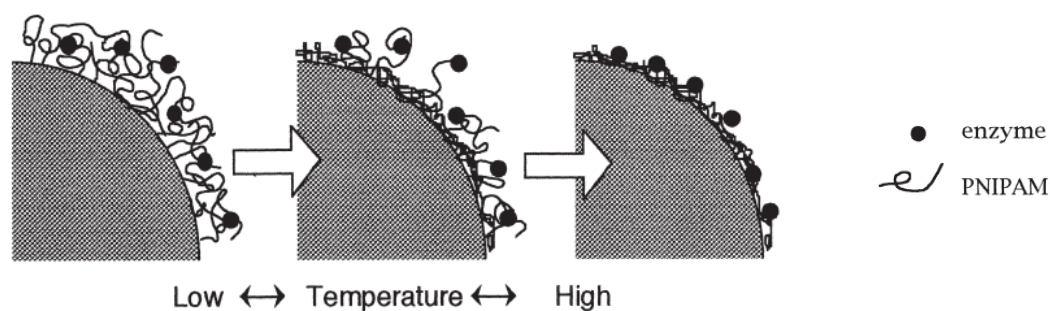


Figure I. 15 : Schéma représentatif de la surface des microgels en fonction de la température. Adapté de <sup>147</sup>.

Si le taux de gonflement des microgels a un impact sur l'activité de la biomolécule, cette dernière peut également être à l'origine d'une variation du gonflement de la matrice polymère. Par exemple, l'oxydation du glucose par la glucose oxydase dans un gel sensible au pH est susceptible de provoquer une modification du taux de gonflement.<sup>148</sup> Lors de cette conversion, le pH au sein du gel diminue. Ainsi le gel étant lui-même sensible au pH, il change d'état, soit en gonflant, soit en se contractant, en fonction de la composition de la matrice polymère.

## IV.Applications des microgels stimulables

### IV.1. Les différents secteurs d'application

Les différentes propriétés des microgels thermosensibles leur permettent de trouver des applications dans des domaines d'activités distincts et en particulier dans le domaine biomédical.

Ces matériaux ont l'avantage d'être biocompatibles, car leurs propriétés sont comparables à celles des tissus vivants (composés majoritairement d'eau, déformable, faible tension de surface avec l'eau ou les fluides biologiques).<sup>149</sup> De plus l'aspect stimuable en fait de très bons candidats pour la délivrance contrôlée de principes actifs.<sup>63,150-154</sup> La modification chimique de la matrice polymère permet de conférer aux microgels la capacité d'adhérer à des tissus spécifiques, ainsi que de les marquer en vue de leur détection. Ces propriétés leur promettent de futures applications en tant que marqueurs pour l'imagerie médicale.<sup>62,155,156</sup> Ces matériaux offrent également l'opportunité de réaliser des capteurs ou des biocapteurs. Cette application sera détaillée dans la suite de ce chapitre.

Grâce à leurs propriétés, ces matériaux peuvent non seulement être utilisés pour le traitement de surface,<sup>157</sup> mais aussi dans le domaine de la dépollution et plus particulièrement le traitement des eaux.<sup>158</sup> Ils sont également utilisés dans le domaine de la formulation pour stabiliser des mousses ou des émulsions.<sup>64,107,108</sup> Les études menées à propos de cette dernière application seront décrites dans le troisième chapitre du manuscrit.

### **IV.2. Capteurs et biocapteurs**

Par définition, un capteur est un dispositif qui transforme une grandeur physique ou chimique en une grandeur utilisable. Les hydrogels ou microgels stimulables représentent une plateforme idéale pour l'élaboration de capteurs et de biocapteurs, puisqu'ils ont la capacité de modifier leurs propriétés physico-chimiques en réponse à un stimulus. Les capteurs ou biocapteurs réalisés sur ce principe utilisent principalement les phénomènes optiques comme moyen de transduction. Les microgels sont tout particulièrement attractifs par rapport aux hydrogels macroscopiques du fait de leur rapidité de réponse aux stimuli.

#### *Modification de la longueur du chemin optique et de l'indice de réfraction*

Les propriétés optiques des gels et notamment leur indice de réfraction, évoluent en fonction de leur état de gonflement. L'équipe de Stokke a ainsi développé un capteur au glucose en exploitant ce phénomène.<sup>159</sup> Un film d'hydrogel est immobilisé sur la pointe d'une fibre optique permettant ainsi de modifier la longueur du chemin optique dans le dispositif en fonction du taux de gonflement du gel. Ces variations de chemin optique sont détectées grâce à



l'utilisation d'un Fabry-Perot.<sup>160</sup> D'autres capteurs, utilisant la modification de l'indice de réfraction comme méthode de transduction sont principalement développés par l'équipe de Lyon. Ces travaux ont prouvé que lorsque les microgels sont adsorbés sur une surface transparente, ils se comportent comme des lentilles,<sup>161</sup> dont la distance focale peut être modifiée en réponse à la température ou au pH.<sup>105</sup>

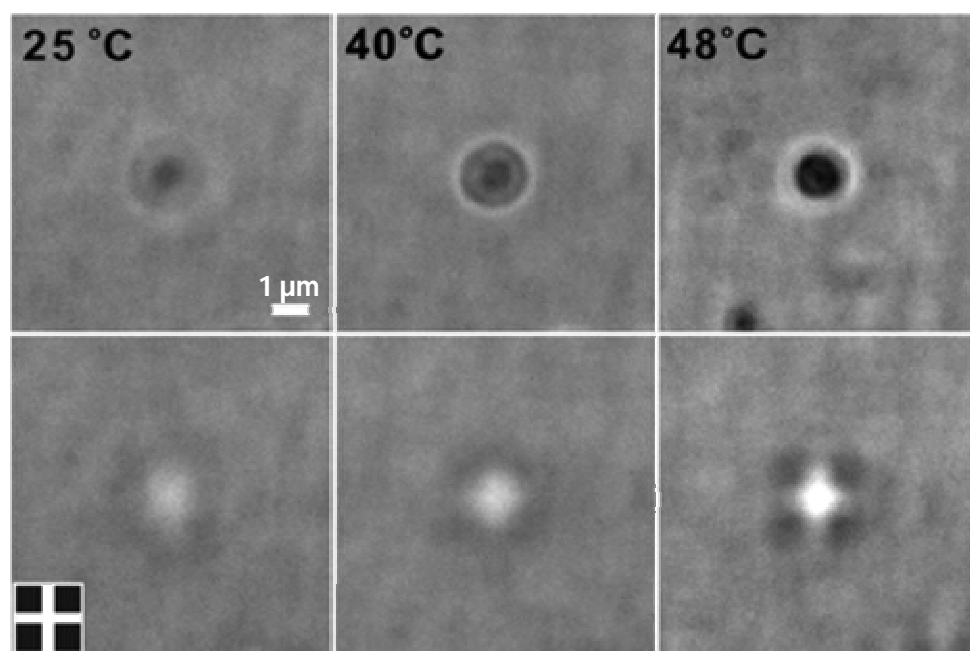


Figure I. 16 : Clichés de microscopie optique de la projection d'une image à travers un même microgel dans un état de gonflement différent en fonction de la température. Adapté de <sup>105</sup>.

Cette propriété provient de leur forme hémisphérique et de la différence d'indice de réfraction entre l'état gonflé et l'état contracté. Par la suite, les travaux de cette équipe se sont orientés sur la structure chimique de la matrice dans le but de développer des microgels sensibles aux protéines.<sup>33,162,163</sup>

### *Diffraction de Bragg*

Afin de traduire la variation de volume en signal optique, différentes équipes ont eu l'idée de coupler les hydrogels à un réseau périodique capable de diffracter la lumière visible (diffraction de Bragg). La structure cristalline étant asservie à l'hydrogel, la périodicité du réseau, et donc la longueur d'onde diffractée, évolue en fonction du taux de gonflement. Asher *et al.* ont

étudié la diffraction de la lumière d'un hydrogel dans lequel est incorporé un réseau périodique de nanoparticules de polystyrène (PS).<sup>164</sup> La longueur d'onde de la lumière diffractée par ce système, appelé Polymerized Colloidal Crystal Array (PCCA), augmente lorsque le gel gonfle en réponse à un stimulus (cf Figure I. 17).

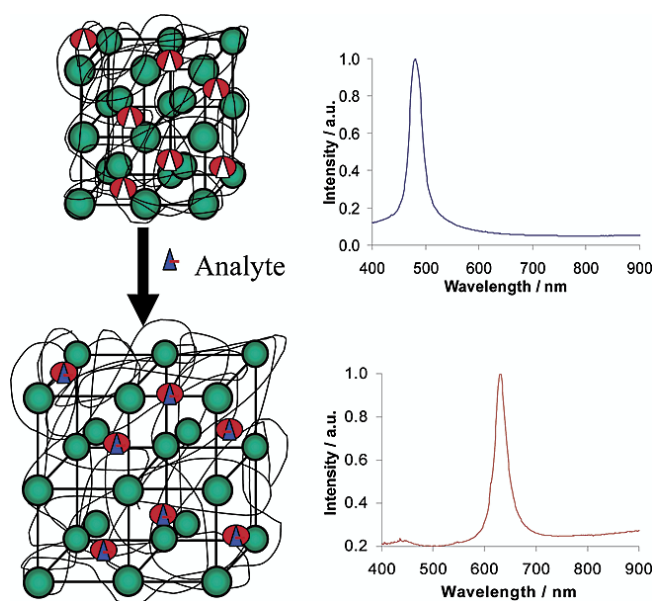


Figure I. 17 : Principe de fonctionnement d'un PCCA et longueur d'onde diffractée en fonction de l'état de gonflement. Extrait de <sup>164</sup>.

Les mêmes propriétés optiques sont conservées si l'inclusion de particules est remplacée par un réseau de cavités. Ce type de matériau qui porte le nom d'opale inverse, est très intéressant car la présence d'espaces vides dans le gel améliore la diffusion des espèces, ce qui a pour conséquence de diminuer le temps de réponse de la structure. Pour préparer ces matériaux, Kataoka *et al.* polymérisent un hydrogel dans les interstices d'un cristal colloïdal de particules de silice.<sup>165</sup> Ensuite, les particules sont dissoutes pour finalement obtenir l'opale inverse. Une dernière stratégie pour modifier la diffraction de Bragg est de former un cristal colloïdal avec des microgels stimulables. Comme nous l'avons mentionné précédemment dans la partie II.2.3, ce type de structure est obtenu à partir de solutions de particules concentrées. L'équipe d'Asher a mis en évidence que lorsque les microgels sont gonflés, la diffraction de Bragg est faible, contrairement à celle observée dans l'état contracté.<sup>166</sup> Ce principe est alors utilisé pour préparer

des cristaux colloïdaux permettant de détecter une variation de la température<sup>166</sup> ou de la concentration en glucose (cf Figure I. 18).<sup>25</sup>



Figure I. 18 : Photographie d'un cristal colloïdal de microgels sensibles au glucose en présence et en absence de glucose. Extrait de<sup>25</sup>

Une stratégie intéressante, développée par Hu *et al.*, consiste à réticuler les microgels une fois qu'ils sont organisés. La réticulation permet de maintenir la structure cristalline même en dehors du tube à essai dans lequel elle a été préparée.<sup>167</sup> La couleur de ce cristal est modifiée par un changement de température ou par la présence d'un champ électrique.

### *Modification des propriétés de fluorescence*

La fluorescence est une méthode de transduction souvent utilisée pour le design de capteur ou de biocapteur. De nombreux microgels fluorescents, dont les propriétés de fluorescence évoluent en fonction du taux de gonflement, ont été synthétisés avec succès. Les causes de la modification de la fluorescence dépendent du type de luminophore utilisé.

Un exemple original de capteur de température est rapporté par Uchiyama *et al.*<sup>168</sup> L'introduction de différents fluorophores organiques sensibles à la polarité de leur environnement permet de moduler la fluorescence des microgels.<sup>67,169</sup> En effet, la diminution de l'hydrophilie qui a lieu dans la matrice polymère lors de la contraction, provoque une exaltation de la fluorescence. Le même type de microgels est également obtenu en utilisant un fluorophore sensible au changement de viscosité induite par la contraction des microgels.<sup>170</sup>

Les quantum dot sont des nanocristaux composés de semi-conducteurs qui possèdent des propriétés optiques différentes selon leur taille.<sup>171</sup> Plusieurs études rapportent l'utilisation de ces matériaux pour la préparation de capteurs sensibles à la température,<sup>134</sup> au pH<sup>133</sup> et au

glucose.<sup>172,173</sup> Ces nanocristaux luminescents ont l'avantage d'avoir des spectres d'absorption et d'émission beaucoup plus étroits, ainsi qu'un rendement quantique plus élevé que les fluorophores organiques dont nous avons parlé précédemment. Cette propriété permet alors d'obtenir des mesures plus précises lors de leurs diverses applications. Un autre avantage de ces cristaux est qu'ils sont beaucoup moins sujets au photoblanchiment. Ce phénomène a très souvent lieu avec des fluorophores organiques, car le passage dans un état excité peut entraîner la modification chimique de la structure et ainsi stopper le phénomène de fluorescence. Cependant, leur incorporation dans la matrice polymère nécessite un traitement de surface pour le lier, par le biais de liaisons covalentes<sup>174</sup> ou de liaisons hydrogène,<sup>175</sup> à la matrice polymère. La modification des propriétés de luminescence est également provoquée par le changement d'hydrophobie de leur environnement ou par les contraintes exercées sur leur surface lorsqu'ils sont copolymérisés.

Le phénomène de FRET, (Förster Resonance Energy Transfert), dont le principe sera détaillé dans le chapitre II de ce manuscrit, est également un bon moyen de transduction. Les propriétés optiques de deux fluorophores, capables d'échanger de l'énergie, évoluent en fonction de la distance qui les sépare. Le gonflement et la contraction des microgels permettent de modifier cette distance en réponse à un stimulus. De nombreux capteurs utilisant ce moyen de transduction ont été développés durant ces dix dernières années. Par exemple, l'équipe de Klimant rapporte la préparation de microgels à base de NIPAM, d'un dérivé de l'acide phényboronique et d'un couple de fluorophores pour la détection du glucose en solution.<sup>176</sup> La complexation du glucose par les boronates modifie le taux de gonflement des microgels et donc la distance qui sépare les fluorophores. Lorsque la distance augmente, le transfert d'énergie est moins efficace, ce qui implique une diminution de l'intensité de fluorescence de la molécule qui reçoit l'énergie au profit de celle qui la cède. Ces travaux montrent une bonne corrélation entre l'évolution des propriétés de fluorescence et la concentration en glucose du milieu à pH 8,5.

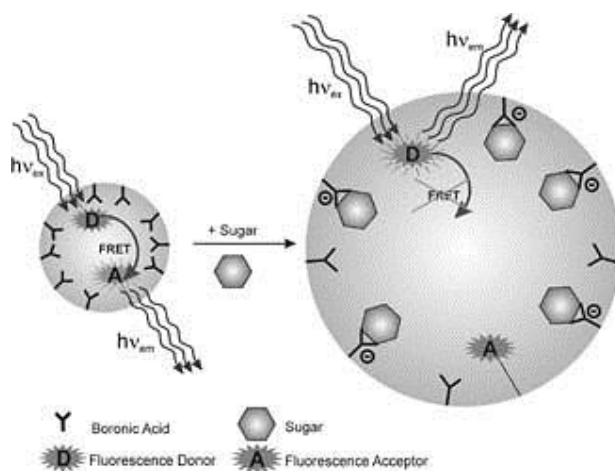


Figure I. 19 : Schéma de la réponse des microgels au glucose impliquant une variation de distance entre les fluorophores.

Dans une seconde étude datant de 2009, la composition des microgels est ajustée afin d'obtenir une cinétique plus rapide et une réponse au glucose à pH 7,9, ce qui leur permet de se rapprocher des conditions physiologiques.<sup>177</sup> Un autre capteur de glucose à pH 8,5 est également développé par l'équipe de Liu.<sup>178</sup> La formulation des microgels est proche de celle utilisée par Klimant lors de la première étude, seul le choix des fluorophores est différent. Cette nouvelle formulation permet également la transduction de la réponse des microgels au glucose avec une bonne sensibilité.

Sur le même principe l'équipe de Liu a également développé des capteurs sensibles à la présence des ions potassium ( $K^+$ ).<sup>179</sup> La structure du microgel est identique à celle utilisée pour les capteurs au glucose, mais le dérivé de l'acide phénylboronique est remplacé par des éthers couronnes capables d'immobiliser les ions  $K^+$  dans la matrice polymère. La présence des ions potassium dans le réseau augmente la transition de phase des microgels. Ainsi, pour une température située entre les températures de transition de phase en présence et en absence de  $K^+$ , l'ajout de ce dernier provoque le gonflement des microgels et donc diminue l'efficacité du FRET. Le même effet est rapporté avec des microgels contenant des groupements qui produisent des ions carboxylates sous irradiation UV.<sup>68</sup> Ces systèmes sont donc sensibles à la lumière.

Le phénomène de FRET est également reporté au sein de microgels ayant une architecture de type cœur écorce. Ce type de structure offre l'opportunité de concevoir des microgels dont la

réponse à un stimulus se fait en deux temps. Par exemple les travaux de Okada et *al* décrivent la préparation de microgels dont le cœur est constitué de NIPAM et l'écorce de NIPAM et de N,N-diéthylacrylamide.<sup>180</sup> Ces matériaux ont alors la propriété d'avoir deux températures différentes de transition de phase : celle de l'écorce vers 19°C et celle du cœur à 32°C. L'incorporation de monomères dérivés de la fluorescéine et de la rhodamine dans le cœur et dans l'écorce, permet d'augmenter l'efficacité du FRET à chaque température de transition. Cette première approche est très intéressante pour la conception de matériaux multisensibles. Ce phénomène est également utilisé par l'équipe de Lyon dans le but d'étudier l'impact de l'écorce sur les propriétés du cœur des microgels.<sup>60,181</sup> Dans un premier temps les cœurs des microgels sont préparés essentiellement à partir de NIPAM, et sont ensuite fonctionnalisés avec deux marqueurs issus de la famille des cyanines.<sup>60</sup> L'étude du FRET en fonction de la température avant et après la synthèse de l'écorce a révélé que le transfert était plus efficace en présence d'une écorce. Les auteurs en ont donc conclu que l'écorce exerce une pression sur le cœur, qui est alors plus contracté qu'en absence d'écorce.

Au sein de microgels, la majorité des phénomènes de transfert d'énergie par résonnance a lieu entre deux fluorophores, car il est relativement facile de les incorporer au réseau de polymères. Cependant, il existe tout de même une étude où le phénomène de FRET est décrit entre des quantum dots de CdTe de tailles différentes.<sup>134</sup> Les quantum dots sont recouverts de thioglycerol afin qu'ils puissent être immobilisés dans le microgel de poly(NIPAM) par des liaisons hydrogènes. Une augmentation de la température provoque la contraction des microgels ainsi que le changement de couleur de la fluorescence, ce qui constitue une preuve que le transfert d'énergie par résonnance se produit.

Une dernière méthode de transduction qui repose également sur la distance entre deux entités immobilisées dans une matrice polymère stimulable est décrite par l'équipe de Liz-Marzán. Les auteurs rapportent l'influence de la distance entre une nanoparticule d'or constituant le cœur d'un microgel et des fluorophores organiques présents dans l'écorce stimulable.<sup>182</sup> La fluorescence des molécules organiques est exaltée lorsqu'elles se rapprochent du cœur métallique. En revanche, ce phénomène, nommé SEF (Surface Enhanced Fluorescence), n'a plus lieu lorsque le fluorophore est trop proche du métal, car, dans ce cas, la fluorescence est quenchée par ce dernier.<sup>183</sup>

Cette étude bibliographique nous a permis de décrire les propriétés principales des microgels, à savoir leur déformabilité et leur caractère stimuable, et de montrer que les microgels peuvent répondre à de nombreuses applications, en particulier dans le domaine des capteurs. Toutefois, de nombreuses questions restent encore ouvertes à ce jour

## V. Présentation des enjeux de la thèse

Cette thèse a pour but d'apporter une contribution pour mieux appréhender le comportement des microgels en solution et aux interfaces, tout en explorant de nouvelles voies pour étendre les applications des microgels.

Ainsi, une première partie du travail sera dédiée à l'étude de microgels électrochimiluminescents. Au cours des dernières années, des travaux ont commencé à porter sur l'étude de polymères redox stimulables. Ils visent principalement à générer des transitions de phase sur le gel en modifiant l'état redox de l'espèce électroactive incorporée.<sup>184</sup> Par ailleurs, l'impact de l'état de gonflement d'un hydrogel stimuable immobilisé à la surface d'une électrode a été étudié sur la cinétique des réactions électrochimiques. Il a été montré que dans l'état contracté, le gel est capable de ralentir la diffusion des espèces électroactives vers l'électrode.<sup>185</sup> Cependant, les microgels n'ont pas encore été étudiés d'un point de vue électrochimique. Nous souhaitons aborder cette question à travers des microgels porteurs de motifs redox et luminescents. Les questions sous-jacentes à ce travail sont les suivantes :

- Les entités électroactives, incluses dans les microgels, sont-elles adressables électrochimiquement avec une électrode ?
- Le taux de gonflement a-t-il un impact sur les réactions électrochimiques au sein de la matrice polymère ?

Ces deux aspects seront abordés dans le chapitre II de ce manuscrit.

Dans une deuxième partie, nous explorerons le rôle de la déformabilité des microgels sur leur comportement à une interface. Nous avons pu montrer que la déformabilité des microgels leur confère des propriétés remarquables par rapport aux particules dures. Ils peuvent notamment se révéler intéressants pour leur utilisation *in vivo*, dans des milieux complexes où leur déformabilité sera un atout pour passer des obstacles. Ce critère peut en effet modifier leur

comportement pour des étapes comme la pénétration dans une cellule ou encore leur excrétion. Leur déformabilité est également mise en évidence par leur comportement aux interfaces. Les travaux récents entrepris sur les interfaces liquides ont révélé la complexité de leur comportement, qui se traduit par leur adsorption dans des conformations différentes. Ainsi, l'étude du comportement des microgels aux interfaces liquides devrait permettre de mieux appréhender le comportement des microgels dans des milieux complexes. Cette étude fera l'objet du chapitre III.

Enfin, la revue bibliographique nous a également permis de montrer la richesse des comportements des microgels, capables de répondre à différents stimuli, et ce, de façon hiérarchisée, grâce à la maîtrise de leur structure interne. Dans ce domaine, la voie de fabrication de microgels non symétriques, présentant deux fonctionnalités différenciées sur chaque hémisphère du microgel, n'a pas été explorée. Ces nouvelles architectures pourraient voir le jour en fonctionnalisant les microgels adsorbés à une interface. Cette étude fera l'objet du chapitre IV. L'enjeu serait ici de pouvoir stimuler et déformer de façon différenciée chaque hémisphère.



## Références :

- (1) Almdal, K.; Dyre, J.; Hvidt, S.; Kramer, O. *Polymer Gels and Networks* **1993**, *1*, 5-17.
- (2) Hoare, T. R.; Kohane, D. S. *Polymer* **2008**, *49*, 1993-2007.
- (3) Vermonden, T.; Censi, R.; Hennink, W. E. *Chemical Reviews* **2012**, *112*, 2853-2888.
- (4) Petka, W. A.; Harden, J. L.; McGrath, K. P.; Wirtz, D.; Tirrell, D. A. *Science* **1998**, *281*, 389-392.
- (5) Wang, C.; Stewart, R. J.; Kopecek, J. *Nature* **1999**, *397*, 417-420.
- (6) Hennink, W. E.; van Nostrum, C. F. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2002**, *54*, 13-36.
- (7) Kavanagh, G. M.; Ross-Murphy, S. B. *Progress in Polymer Science* **1998**, *23*, 533-562.
- (8) Flory, P. J.; Volkenstein, M. *Biopolymers* **1969**, *8*, 699-700.
- (9) Rubinstein, M.; Colby, R. *Polymers Physics*; Oxford, 2003.
- (10) Peppas, N. A.; Hilt, J. Z.; Khademhosseini, A.; Langer, R. *Advanced Materials* **2006**, *18*, 1345-1360.
- (11) Saunders, B. R.; Vincent, B. *Advances in Colloid and Interface Science* **1999**, *80*, 1-25.
- (12) Langer, R.; Peppas, N. A. *AIChE Journal* **2003**, *49*, 2990-3006.
- (13) Katchalsky, A.; Michaeli, I. *Journal of Polymer Science* **1955**, *15*, 69-86.
- (14) M. A. LAGUTINA, S. A. D. *The swelling pressure of weakly ionic acrylamide gels*; Springer: Heidelberg, ALLEMAGNE, 1996; Vol. 38.
- (15) Heskins, M.; Guillet, J. E. *Journal of Macromolecular Science: Part A - Chemistry* **1968**, *2*, 1441-1455.
- (16) Daly, E.; Saunders, B. R. *Langmuir* **2000**, *16*, 5546-5552.
- (17) Kratz, K.; Hellweg, T.; Eimer, W. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **2000**, *170*, 137-149.
- (18) Park, T. G.; Hoffman, A. S. *Macromolecules* **1993**, *26*, 5045-5048.
- (19) Ravaine, V.; Ancla, C.; Catargi, B. *Journal of Controlled Release* **2008**, *132*, 2-11.
- (20) Springsteen, G.; Wang, B. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 5291-5300.
- (21) Kataoka, K.; Miyazaki, H.; Bunya, M.; Okano, T.; Sakurai, Y. *Journal of the American Chemical Society* **1998**, *120*, 12694-12695.
- (22) Lorand, J. P.; Edwards, J. O. *The Journal of Organic Chemistry* **1959**, *24*, 769-774.
- (23) Zhang, Y.; Guan, Y.; Zhou, S. *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 3196-3201.
- (24) Hoare, T.; Pelton, R. *Macromolecules* **2007**, *40*, 670-678.
- (25) Lapeyre, V.; Gosse, I.; Chevreux, S.; Ravaine, V. *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 3356-3363.
- (26) Tanaka, T.; Fillmore, D. J. *The Journal of Chemical Physics* **1979**, *70*, 1214-1218.
- (27) Duracher, D.; Elaïssari, A.; Pichot, C. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **1999**, *37*, 1823-1837.
- (28) Lowe, J. S.; Chowdhry, B. Z.; Parsonage, J. R.; Snowden, M. J. *Polymer* **1998**, *39*, 1207-1212.
- (29) Jones, C. D.; Lyon, L. A. *Macromolecules* **2000**, *33*, 8301-8306.
- (30) Das, M.; Mardiyani, S.; Chan, W. C. W.; Kumacheva, E. *Advanced Materials* **2006**, *18*, 80-83.
- (31) Wong, J. E.; Gaharwar, A. K.; Müller-Schulte, D.; Bahadur, D.; Richtering, W. *Journal of Colloid and Interface Science* **2008**, *324*, 47-54.
- (32) Serksen, S. R.; Westcott, S. L.; Halas, N. J.; West, J. L. *Applied Physics Letters* **2002**, *80*, 4609-4611.

- (33) Kim, J.; Nayak, S.; Lyon, L. A. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127*, 9588-9592.
- (34) Neyret, S.; Vincent, B. *Polymer* **1997**, *38*, 6129-6134.
- (35) Landfester, K. *Advanced Materials* **2001**, *13*, 765-768.
- (36) Pelton, R. H.; Chibante, P. *Colloids and Surfaces* **1986**, *20*, 247-256.
- (37) Pelton, R. H.; Pelton, H. M.; Morphesis, A.; Rowell, R. L. *Langmuir* **1989**, *5*, 816-818.
- (38) Cao, Z.; Du, B.; Chen, T.; Nie, J.; Xu, J.; Fan, Z. *Langmuir* **2008**, *24*, 12771-12778.
- (39) Du, J.; Chen, Y. *Macromolecules* **2004**, *37*, 5710-5716.
- (40) Braun, O.; Selb, J.; Candau, F. *Polymer* **2001**, *42*, 8499-8510.
- (41) Seiffert, S.; Weitz, D. A. *Soft Matter* **2010**, *6*, 3184-3190.
- (42) Nayak, S.; Lyon, L. A. *Angewandte Chemie International Edition* **2005**, *44*, 7686-7708.
- (43) McPhee, W.; Tam, K. C.; Pelton, R. *Journal of Colloid and Interface Science* **1993**, *156*, 24-30.
- (44) Wu, X.; Pelton, R. H.; Hamielec, A. E.; Woods, D. R.; McPhee, W. *Colloid Polym Sci* **1994**, *272*, 467-477.
- (45) Meyer, S.; Richtering, W. *Macromolecules* **2005**, *38*, 1517-1519.
- (46) Varga, I.; Gilányi, T.; Mészáros, R.; Filipcsei, G.; Zrínyi, M. *The Journal of Physical Chemistry B* **2001**, *105*, 9071-9076.
- (47) Mason, T. G.; Lin, M. Y. *Physical Review E* **2005**, *71*, 040801.
- (48) Saunders, B. R. *Langmuir* **2004**, *20*, 3925-3932.
- (49) Stieger, M.; Pedersen, J. S.; Lindner, P.; Richtering, W. *Langmuir* **2004**, *20*, 7283-7292.
- (50) Stieger, M.; Richtering, W.; Pedersen, J. S.; Lindner, P. *The Journal of Chemical Physics* **2004**, *120*, 6197-6206.
- (51) Guillermo, A.; Cohen Addad, J. P.; Bazile, J. P.; Duracher, D.; Elaissari, A.; Pichot, C. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics* **2000**, *38*, 889-898.
- (52) Saunders, B. R.; Laajam, N.; Daly, E.; Teow, S.; Hu, X.; Stepto, R. *Advances in Colloid and Interface Science* **2009**, *147-148*, 251-262.
- (53) Acciaro, R.; Gilányi, T.; Varga, I. *Langmuir* **2011**, *27*, 7917-7925.
- (54) Lapeyre, V.; Ancla, C.; Catargi, B.; Ravaine, V. *Journal of Colloid and Interface Science* **2008**, *327*, 316-323.
- (55) Ancla, C.; Lapeyre, V.; Gosse, I.; Catargi, B.; Ravaine, V. *Langmuir* **2011**, *27*, 12693-12701.
- (56) Kataoka, K.; Miyazaki, H.; Okano, T.; Sakurai, Y. *Macromolecules* **1994**, *27*, 1061-1062.
- (57) Amalvy, J.; Wanless, E.; Li, Y.; Michailidou, V.; Armes, S.; Duccini, Y. *Langmuir* **2004**, *20*, 8992-8999.
- (58) Xu, J.; Pelton, R. *Journal of Colloid and Interface Science* **2004**, *276*, 113-117.
- (59) Thaiboonrod, S.; Berkland, C.; Milani, A. H.; Ulijn, R.; Saunders, B. R. *Soft Matter* **2013**, *9*, 3920-3930.
- (60) Jones, C. D.; McGrath, J. G.; Lyon, L. A. *The Journal of Physical Chemistry B* **2004**, *108*, 12652-12657.
- (61) Garcia, A.; Marquez, M.; Cai, T.; Rosario, R.; Hu, Z.; Gust, D.; Hayes, M.; Vail, S. A.; Park, C.-D. *Langmuir* **2006**, *23*, 224-229.
- (62) Nayak, S.; Lee, H.; Chmielewski, J.; Lyon, L. A. *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126*, 10258-10259.
- (63) Liu, P.; Luo, Q.; Guan, Y.; Zhang, Y. *Polymer* **2010**, *51*, 2668-2675.

- (64) Suzuki, D.; Tsuji, S.; Kawaguchi, H. *Journal of the American Chemical Society* **2007**, *129*, 8088-8089.
- (65) Snowden, M. J.; Chowdhry, B. Z.; Vincent, B.; Morris, G. E. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **1996**, *92*, 5013-5016.
- (66) Hoare, T.; Pelton, R. *Macromolecules* **2004**, *37*, 2544-2550.
- (67) Iwai, K.; Matsumura, Y.; Uchiyama, S.; de Silva, A. P. *Journal of Materials Chemistry* **2005**, *15*, 2796-2800.
- (68) Yin, J.; Hu, H.; Wu, Y.; Liu, S. *Polymer Chemistry* **2011**, *2*, 363-371.
- (69) Cho, E. C.; Kim, J.-W.; Fernández-Nieves, A.; Weitz, D. A. *Nano letters* **2008**, *8*, 168-172.
- (70) Yin, J.; Li, C.; Wang, D.; Liu, S. *The Journal of Physical Chemistry B* **2010**, *114*, 12213-12220.
- (71) Luo, Q.; Guan, Y.; Zhang, Y.; Siddiq, M. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2010**, *48*, 4120-4127.
- (72) LUO, Q.; GUAN, Y.; ZHANG, Y. *Acta Polymerica Sinica* **2010**, *6*, 030.
- (73) Keerl, M.; Richtering, W. *Colloid Polym Sci* **2007**, *285*, 471-474.
- (74) Scherzinger, C.; Lindner, P.; Keerl, M.; Richtering, W. *Macromolecules* **2010**, *43*, 6829-6833.
- (75) Hoare, T.; Pelton, R. *Langmuir* **2004**, *20*, 2123-2133.
- (76) Hoare, T.; Pelton, R. *Journal of Physical Chemistry B* **2007**, *111*, 11895-11906.
- (77) Hoare, T.; Pelton, R. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **2008**, *13*, 413-428.
- (78) Brugger, B.; Richtering, W. *Langmuir* **2008**, *24*, 7769-7777.
- (79) Hu, X.; Tong, Z.; Lyon, L. A. *Colloid Polym Sci* **2011**, *289*, 333-339.
- (80) Nur, H.; Pinkrah, V. T.; Mitchell, J. C.; Benée, L. S.; Snowden, M. J. *Advances in Colloid and Interface Science* **2010**, *158*, 15-20.
- (81) Senff, H.; Richtering, W. *Colloid Polym Sci* **2000**, *278*, 830-840.
- (82) Ito, S. *KOBUNSHI RONBUNSHU* **1989**, *46*, 437-443.
- (83) Hazot, P.; Delair, T.; Elaissari, A.; Pichot, C.; Chapel, J. P.; Davenas, J. *Macromolecular Symposia* **2000**, *150*, 291-296.
- (84) Debord, J. D.; Lyon, L. A. *Langmuir* **2003**, *19*, 7662-7664.
- (85) Brugger, B.; Rosen, B. A.; Richtering, W. *Langmuir* **2008**, *24*, 12202-12208.
- (86) Ngai, T.; Auweter, H.; Behrens, S. H. *Macromolecules* **2006**, *39*, 8171-8177.
- (87) Höfl, S.; Zitzler, L.; Hellweg, T.; Herminghaus, S.; Mugele, F. *Polymer* **2007**, *48*, 245-254.
- (88) López-León, T.; Ortega-Vinuesa, J. L.; Bastos-González, D.; Elaïssari, A. *The Journal of Physical Chemistry B* **2006**, *110*, 4629-4636.
- (89) Hu, X.; Tong, Z.; Lyon, L. A. *Colloid Polym Sci* **2011**, *289*, 333-339.
- (90) Pinkrah, V.; Snowden, M.; Mitchell, J.; Seidel, J.; Chowdhry, B.; Fern, G. *Langmuir* **2003**, *19*, 585-590.
- (91) Kim, K. S.; Vincent, B. *Polymer journal* **2005**, *37*, 565-570.
- (92) Hoare, T.; Pelton, R. *Langmuir* **2006**, *22*, 7342-7350.
- (93) Hoare, T.; Pelton, R. *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 733-740.
- (94) Nisato, G.; Munch, J.; Candau, S. *Langmuir* **1999**, *15*, 4236-4244.
- (95) Daly, E.; Saunders, B. R. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2000**, *2*, 3187-3193.
- (96) Snowden, M. J.; Vincent, B. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **1992**, 1103-1105.
- (97) Pelton, R. *Advances in Colloid and Interface Science* **2000**, *85*, 1-33.
- (98) Tsuji, S.; Kawaguchi, H. *Langmuir* **2005**, *21*, 8439-8442.

- (99) Lyon, L. A.; Debord, J. D.; Debord, S. B.; Jones, C. D.; McGrath, J. G.; Serpe, M. J. *The Journal of Physical Chemistry B* **2004**, *108*, 19099-19108.
- (100) Debord, J. D.; Lyon, L. A. *The Journal of Physical Chemistry B* **2000**, *104*, 6327-6331.
- (101) Debord, J. D.; Eustis, S.; Byul Debord, S.; Lofye, M. T.; Lyon, L. A. *Advanced Materials* **2002**, *14*, 658-662.
- (102) Senff, H.; Richtering, W. *The Journal of Chemical Physics* **1999**, *111*, 1705-1711.
- (103) Öle Kiminta, D. M.; Luckham, P. F.; Lenon, S. *Polymer* **1995**, *36*, 4827-4831.
- (104) Zhou, J.; Wang, G.; Zou, L.; Tang, L.; Marquez, M.; Hu, Z. *Biomacromolecules* **2007**, *9*, 142-148.
- (105) Kim, J.; Serpe, M. J.; Lyon, L. A. *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126*, 9512-9513.
- (106) Schmitt, V.; Ravaine, V. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **2013**, *18*, 532-541.
- (107) Richtering, W. *Langmuir* **2012**, *28*, 17218-17229.
- (108) Destribats, M.; Lapeyre, V.; Wolfs, M.; Sellier, E.; Leal-Calderon, F.; Ravaine, V.; Schmitt, V. *Soft Matter* **2011**, *7*, 7689-7698.
- (109) Hendrickson, G. R.; Lyon, L. A. *Angewandte Chemie International Edition* **2010**, *49*, 2193-2197.
- (110) Holden, D. A.; Hendrickson, G.; Lyon, L. A.; White, H. S. *The Journal of Physical Chemistry C* **2011**, *115*, 2999-3004.
- (111) Holden, D. A.; Hendrickson, G. R.; Lan, W.-J.; Lyon, L. A.; White, H. S. *Soft Matter* **2011**, *7*, 8035-8040.
- (112) Lyon, L. A.; Fernandez-Nieves, A. *Annual Review of Physical Chemistry* **2012**, *63*, 25-43.
- (113) Merkel, T. J.; Chen, K.; Jones, S. W.; Pandya, A. A.; Tian, S.; Napier, M. E.; Zamboni, W. E.; DeSimone, J. M. *Journal of Controlled Release* **2012**, *162*, 37-44.
- (114) Berndt, I.; Richtering, W. *Macromolecules* **2003**, *36*, 8780-8785.
- (115) Berndt, I.; Pedersen, J. S.; Richtering, W. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127*, 9372-9373.
- (116) Berndt, I.; Pedersen, J. S.; Richtering, W. *Angewandte Chemie International Edition* **2006**, *45*, 1737-1741.
- (117) Berndt, I.; Popescu, C.; Wortmann, F.-J.; Richtering, W. *Angewandte Chemie International Edition* **2006**, *45*, 1081-1085.
- (118) Gan, D.; Lyon, L. A. *Journal of the American Chemical Society* **2001**, *123*, 7511-7517.
- (119) Jones, C. D.; Lyon, L. A. *Langmuir* **2003**, *19*, 4544-4547.
- (120) Jones, C. D.; Lyon, L. A. *Macromolecules* **2003**, *36*, 1988-1993.
- (121) Nayak, S.; Gan, D.; Serpe, M. J.; Lyon, L. A. *Small* **2005**, *1*, 416-421.
- (122) Zhang, F.; Wang, C.-C. *Colloid Polym Sci* **2008**, *286*, 889-895.
- (123) Gao, H.; Yang, W.; Min, K.; Zha, L.; Wang, C.; Fu, S. *Polymer* **2005**, *46*, 1087-1093.
- (124) Singh, N.; Lyon, L. A. *Chemistry of Materials* **2007**, *19*, 719-726.
- (125) Li, Z.; Kwok, M. H.; Ngai, T. *Macromolecular rapid communications* **2012**, *33*, 419-425.
- (126) Wang, X.; Zhou, W.; Cao, J.; Liu, W.; Zhu, S. *Journal of Colloid and Interface Science* **2012**, *372*, 24-31.
- (127) Wang, J.-Y.; Jin, Y.; Xie, R.; Liu, J.-Y.; Ju, X.-J.; Meng, T.; Chu, L.-Y. *Journal of Colloid and Interface Science* **2011**, *353*, 61-68.
- (128) Shah, R. K.; Kim, J.-W.; Agresti, J. J.; Weitz, D. A.; Chu, L.-Y. *Soft Matter* **2008**, *4*, 2303-2309.

- (129) Seiffert, S.; Thiele, J.; Abate, A. R.; Weitz, D. A. *Journal of the American Chemical Society* **2010**, *132*, 6606-6609.
- (130) Seiffert, S.; Romanowsky, M. B.; Weitz, D. A. *Langmuir* **2010**, *26*, 14842-14847.
- (131) Zhang, J.; Xu, S.; Kumacheva, E. *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126*, 7908-7914.
- (132) Contreras-Cáceres, R.; Sánchez-Iglesias, A.; Karg, M.; Pastoriza-Santos, I.; Pérez-Juste, J.; Pacifico, J.; Hellweg, T.; Fernández-Barbero, A.; Liz-Marzán, L. M. *Advanced Materials* **2008**, *20*, 1666-1670.
- (133) Kuang, M.; Wang, D.; Bao, H.; Gao, M.; Möhwald, H.; Jiang, M. *Advanced Materials* **2005**, *17*, 267-270.
- (134) Gong, Y.; Gao, M.; Wang, D.; Möhwald, H. *Chemistry of Materials* **2005**, *17*, 2648-2653.
- (135) Mrkic, J.; Saunders, B. R. *Journal of Colloid and Interface Science* **2000**, *222*, 75-82.
- (136) Rubio Retama, J.; López Cabarcos, E.; Mecerreyes, D.; López-Ruiz, B. *Biosensors and Bioelectronics* **2004**, *20*, 1111-1117.
- (137) Sharma, G.; Ballauff, M. *Macromolecular rapid communications* **2004**, *25*, 547-552.
- (138) Biffis, A.; Orlandi, N.; Corain, B. *Advanced Materials* **2003**, *15*, 1551-1555.
- (139) Mingyuan, G.; Xiaogang, P.; Jiacong, S. *Thin Solid Films* **1994**, *248*, 106-109.
- (140) Ménager, C.; Sandre, O.; Mangili, J.; Cabuil, V. *Polymer* **2004**, *45*, 2475-2481.
- (141) Xu, S.; Zhang, J.; Paquet, C.; Lin, Y.; Kumacheva, E. *Advanced Functional Materials* **2003**, *13*, 468-472.
- (142) Zhang, Q.; Zha, L.; Ma, J.; Liang, B. *Macromolecular rapid communications* **2007**, *28*, 116-120.
- (143) Pich, A.; Zhang, F.; Shen, L.; Berger, S.; Ornatsky, O.; Baranov, V.; Winnik, M. A. *Small* **2008**, *4*, 2171-2175.
- (144) Karg, M.; Pastoriza-Santos, I.; Liz-Marzán, L. M.; Hellweg, T. *ChemPhysChem* **2006**, *7*, 2298-2301.
- (145) Clara-Rahola, J.; Contreras-Caceres, R.; Sierra-Martin, B.; Maldonado-Valdivia, A.; Hund, M.; Fery, A.; Hellweg, T.; Fernandez-Barbero, A. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **2014**, *463*, 18-27.
- (146) Yasui, M.; Shiroya, T.; Fujimoto, K.; Kawaguchi, H. *Colloids and Surfaces B: biointerfaces* **1997**, *8*, 311-319.
- (147) Kawaguchi, H.; Kisara, K.; Takahashi, T.; Achiha, K.; Yasui, M.; Fujimoto, K. *Macromolecular Symposia* **2000**, *151*, 591-598.
- (148) Hassan, C. M.; Doyle, F. J.; Peppas, N. A. *Macromolecules* **1997**, *30*, 6166-6173.
- (149) Guan, Y.; Zhang, Y. *Soft Matter* **2011**, *7*, 6375-6384.
- (150) Hoare, T.; Pelton, R. *Langmuir* **2008**, *24*, 1005-1012.
- (151) Blackburn, W. H.; Dickerson, E. B.; Smith, M. H.; McDonald, J. F.; Lyon, L. A. *Bioconjugate Chemistry* **2009**, *20*, 960-968.
- (152) Zhang, J.; Qian, Z.; Gu, Y. *Nanotechnology* **2009**, *20*, 325102.
- (153) Li, F.; Bae, B.-c.; Na, K. *Bioconjugate Chemistry* **2010**, *21*, 1312-1320.
- (154) Khanal, A.; Bui, M.-P. N.; Seo, S. S. *Journal of breast cancer* **2014**, *17*, 18-24.
- (155) Gota, C.; Okabe, K.; Funatsu, T.; Harada, Y.; Uchiyama, S. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131*, 2766-2767.
- (156) Wu, W.; Shen, J.; Banerjee, P.; Zhou, S. *Biomaterials* **2010**, *31*, 7555-7566.
- (157) Schmidt, S.; Motschmann, H.; Hellweg, T.; von Klitzing, R. *Polymer* **2008**, *49*, 749-756.

- (158) Morris, G. E.; Vincent, B.; Snowden, M. J. *Journal of Colloid and Interface Science* **1997**, *190*, 198-205.
- (159) Tierney, S.; Falch, B. M. H.; Hjelme, D. R.; Stokke, B. T. *Analytical Chemistry* **2009**, *81*, 3630-3636.
- (160) Tierney, S.; Volden, S.; Stokke, B. T. *Biosensors and Bioelectronics* **2009**, *24*, 2034-2039.
- (161) Serpe, M. J.; Kim, J.; Lyon, L. A. *Advanced Materials* **2004**, *16*, 184-187.
- (162) Kim, J.; Singh, N.; Lyon, L. A. *Angewandte Chemie International Edition* **2006**, *45*, 1446-1449.
- (163) Kim, J.; Singh, N.; Lyon, L. A. *Chemistry of Materials* **2007**, *19*, 2527-2532.
- (164) Asher, S. A.; Alexeev, V. L.; Goponenko, A. V.; Sharma, A. C.; Lednev, I. K.; Wilcox, C. S.; Finegold, D. N. *Journal of the American Chemical Society* **2003**, *125*, 3322-3329.
- (165) Nakayama, D.; Takeoka, Y.; Watanabe, M.; Kataoka, K. *Angewandte Chemie International Edition* **2003**, *42*, 4197-4200.
- (166) Weissman, J. M.; Sunkara, H. B.; Albert, S. T.; Asher, S. A. *Science* **1996**, *274*, 959-963.
- (167) Hu, Z.; Lu, X.; Gao, J. *Advanced Materials* **2001**, *13*, 1708-1712.
- (168) Uchiyama, S.; Matsumura, Y.; de Silva, A. P.; Iwai, K. *Analytical chemistry* **2003**, *75*, 5926-5935.
- (169) Uchiyama, S.; Kawai, N.; de Silva, A. P.; Iwai, K. *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126*, 3032-3033.
- (170) Wang, D.; Miyamoto, R.; Shiraishi, Y.; Hirai, T. *Langmuir* **2009**, *25*, 13176-13182.
- (171) Tomczak, N.; Jańczewski, D.; Han, M.; Vancso, G. J. *Progress in Polymer Science* **2009**, *34*, 393-430.
- (172) Wu, W.; Zhou, T.; Shen, J.; Zhou, S. *Chemical Communications* **2009**, 4390-4392.
- (173) Wu, W.; Mitra, N.; Yan, E. C. Y.; Zhou, S. *ACS Nano* **2010**, *4*, 4831-4839.
- (174) Jańczewski, D.; Tomczak, N.; Han, M.-Y.; Vancso, G. J. *European Polymer Journal* **2009**, *45*, 1912-1917.
- (175) Gong, Y.; Gao, M.; Wang, D.; Möhwald, H. *Chemistry of Materials* **2005**, *17*, 2648-2653.
- (176) Zenkl, G.; Mayr, T.; Klimant, I. *Macromolecular Bioscience* **2008**, *8*, 146-152.
- (177) Zenkl, G.; Klimant, I. *Microchim Acta* **2009**, *166*, 123-131.
- (178) Wang, D.; Liu, T.; Yin, J.; Liu, S. *Macromolecules* **2011**, *44*, 2282-2290.
- (179) Yin, J.; Li, C.; Wang, D.; Liu, S. *The Journal of Physical Chemistry B* **2010**, *114*, 12213-12220.
- (180) Okada, K.; Maeda, Y. *Journal of Applied Polymer Science* **2013**, *130*, 201-205.
- (181) Gan, D.; Lyon, L. A. *Journal of the American Chemical Society* **2001**, *123*, 8203-8209.
- (182) Álvarez-Puebla, R. A.; Contreras-Cáceres, R.; Pastoriza-Santos, I.; Pérez-Juste, J.; Liz-Marzán, L. M. *Angewandte Chemie International Edition* **2009**, *48*, 138-143.
- (183) Rodríguez-Lorenzo, L.; Álvarez-Puebla, R. n. A.; de Abajo, F. J. G. a.; Liz-Marzán, L. M. *The Journal of Physical Chemistry C* **2009**, *114*, 7336-7340.
- (184) Sui, X.; Feng, X.; Hempenius, M. A.; Vancso, G. J. *Journal of Materials Chemistry B* **2013**, *1*, 1658-1672.
- (185) Bocharova, V.; Tam, T. K.; Halamek, J.; Pita, M.; Katz, E. *Chemical Communications* **2010**, *46*, 2088-2090.



**Chapitre II :**

**Microgels électrochimiluminescents pour le  
développement d'une nouvelle gamme de  
biocapteurs**

---



## Introduction au chapitre

Le but de ce chapitre est de développer une nouvelle gamme de capteurs/biocapteurs à partir de microgels stimulables qui possèdent des propriétés spectroscopiques. De nombreux biocapteurs à base d'hydrogels ou de microgels, qui tirent profit de la modification des propriétés physiques de la matrice polymère lors des variations de taux de gonflement en réponse à un stimulus, ont été développés.<sup>1</sup> Ils associent un élément de reconnaissance moléculaire, tels qu'une enzyme ou un ligand, à la matrice. Le processus de reconnaissance moléculaire de l'espèce cible engendre un changement physico-chimique (interactions polymère-solvant, densité de charge ou de réticulation, conformation, etc.) qui provoque la modulation du gonflement.<sup>2</sup> Des microgels sensibles à des cations,<sup>3</sup> au glucose,<sup>4-7</sup> ou à un antigène ont ainsi été décrits.<sup>8</sup>

Parmi les différents moyens de transduction, la luminescence occupe une place de choix (cf Figure II. 1).

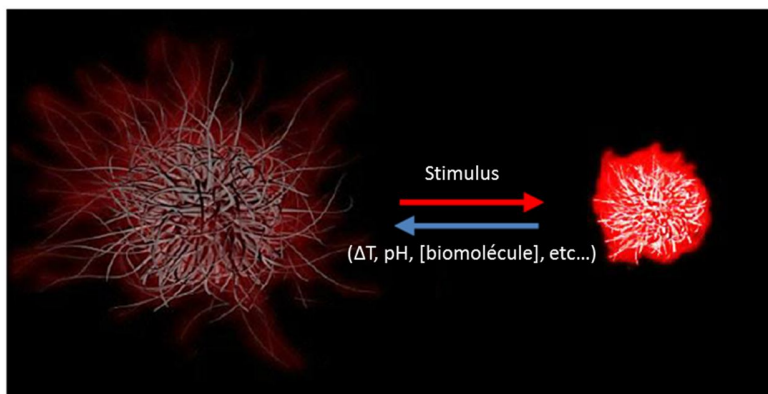


Figure II. 1 : Schéma d'un microgel dont les propriétés de luminescence sont modifiées lors du changement du taux de gonflement en réponse à un stimulus.

Des microgels fluorescents, dont l'intensité change en fonction du gonflement, ont été développés sur la base de différents mécanismes tels que la modification de polarité des fluorophores,<sup>9</sup> le transfert d'énergie entre fluorophores donneurs et accepteurs,<sup>10</sup> ou l'incorporation de quantum dots.<sup>11</sup> Parmi les différents modes d'excitation des fluorophores, nous

avons choisi l'électrochimiluminescence (ECL), car cette technique présente de nombreux avantages tels que la simplicité d'utilisation, la génération *in situ* des réactifs, une bonne sensibilité et une forte sélectivité. L'état excité émettant la luminescence est obtenu suite à une cascade de réactions qui est déclenchée par un transfert électronique se produisant directement à la surface d'une électrode. De nombreux systèmes alliant l'électrochimie et les polymères ont été étudiés.<sup>12</sup> Cette association permet de concevoir des matériaux dont les propriétés optiques sont modifiées par des réactions d'oxydo-réduction à la surface d'une électrode,<sup>13,14</sup> ou de provoquer des transitions du type sol-gel par oxydation ou réduction chimique.<sup>15,16</sup> La fonctionnalisation de la surface d'une électrode avec des polymères stimulables permet également de moduler les réactions d'oxydo-réduction en fonction de leur solvation dans le milieu.<sup>17</sup>

Notre étude nécessite d'introduire une espèce électroactive dans la matrice polymère capable de générer un signal d'ECL. Ce concept n'ayant pas encore été étudié, une question fondamentale se pose : comment se comportent les microgels d'un point de vue électrochimique et ECL ? Afin de répondre à cette question, nous avons étudié les propriétés d'ECL d'un complexe de ruthénium incorporé dans une matrice polymère thermosensible en fonction du taux de gonflement de cette dernière. Nous pourrions nous attendre à une diminution du signal émis lorsque la matrice se contracte, car la diffusion du co-réactif dans les microgels, nécessaire à l'émission d'un signal lumineux, peut être ralentie. Ce concept sera ensuite étendu pour préparer des matériaux dont les propriétés de luminescence sont modifiées par la concentration en glucose ou en fructose du milieu. Enfin, nous étudierons le transfert d'énergie entre deux fluorophores, liés de manière covalente aux microgels, en fonction de la température. Tout au long de ce chapitre, les propriétés luminescentes des microgels excités par voie électrochimique seront comparées à celles obtenues par photoluminescence.

## I. L'électrochimiluminescence (ECL)

L'électrochimiluminescence, ou luminescence électrogénérée, est un procédé où des espèces chimiques générées à la surface d'une électrode participent à des transferts d'électrons. Ces électrons hauts en énergie vont permettre à des molécules particulières, de type luminophore, d'atteindre leur état excité et ensuite d'émettre de la lumière sous forme de photons en retournant à leur état fondamental.<sup>18,19</sup> L'ECL possède de nombreux avantages sur la photoluminescence et la chimiluminescence. Premièrement, certains réactifs peuvent être régénérés électrochimiquement à la surface de l'électrode durant le processus, permettant ainsi d'augmenter la sensibilité de la mesure. De plus la combinaison de l'électrochimie et de la luminescence permet le contrôle spatial et temporel de la génération de l'état excité, car il a lieu au voisinage d'une électrode pour une valeur de potentiel bien définie. Un dernier avantage que nous pouvons citer, est l'absence de source lumineuse permettant ainsi de s'affranchir du bruit issu de la diffusion de lumière et de l'émission d'autres espèces luminescentes présentes dans le milieu.<sup>18,20</sup> Grâce à ces atouts l'ECL est une technique très sensible, sélective, avec un excellent rapport signal sur bruit.

### I.1. Aperçu historique de l'électrochimiluminescence

Bien que l'émission de lumière lors de réactions électrochimiques a été observée pour la première fois dans les années 1920<sup>21,22</sup>, il faudra attendre jusqu'au milieu des années 1960 pour que les premières études détaillées d'ECL soient rapportées par Hercules<sup>23</sup> et Bard.<sup>24</sup> L'observation de l'émission de lumière lors de l'application alternative d'un potentiel positif et d'un potentiel négatif en présence d'un hydrocarbure aromatique, leur a permis de suggérer un mécanisme mettant en jeu des transferts d'électrons. Un peu plus tard, en 1972, il a été rapporté que le complexe métallique, le ruthénium(II)tris(2,2'-bipyridine) (noté par la suite  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$ ) est aussi à l'origine d'une émission de lumière lors d'expériences de voltampérométrie cyclique à la surface d'une électrode de platine.<sup>25</sup> En 1977, l'observation d'émission lumineuse lors de l'oxydation simultanée d'oxalate et de luminophore tels que le 9,10-diphénylanthracène (DPA) ou encore des complexes de ruthénium(II) ou d'osmium(II)<sup>26</sup> représente une avancée majeure. En effet, ces travaux ont permis la découverte de l'ECL générée avec l'utilisation d'un co-réactif.

Une dizaine d'années plus tard d'autres co-réactifs seront découverts, comme les amines aliphatiques et plus particulièrement la tri-n-propylamine (TPrA), qui est rapportée comme l'un des co-réactifs les plus efficaces pour la génération d'ECL.<sup>27,28</sup> De plus, avec les amines aliphatiques il est possible de générer un signal ECL en solution aqueuse et non uniquement dans un solvant organique. Grâce à sa grande sensibilité et sélectivité, l'ECL trouve de nombreuses applications dans le domaine analytique. La première d'entre elles a d'ailleurs été rapportée dans le début des années 1990.<sup>29</sup> De nos jours l'ECL est également couplée à d'autres techniques d'analyse telles que la chromatographie en phase liquide à haute performance, l'analyse par injection en flux continu ou encore l'électrophorèse capillaire.<sup>18,19</sup> Des appareils d'immunodosage utilisant l'ECL sont également commercialisés par Roche Diagnostic et Meso Scale Discovery.<sup>30,31</sup>

## I.2. Génération d'ECL par annihilation

Bien que les études récentes utilisent majoritairement un co-réactif pour générer l'ECL, les premières investigations ont été faites en utilisant le mécanisme dit : « d'annihilation ». Lors de ce mécanisme, l'état excité résulte d'un transfert d'électron entre une espèce oxydée et une espèce réduite. Ces espèces sont générées à la surface d'une électrode en appliquant alternativement un potentiel positif et négatif (cf Figure II. 2). Si le potentiel de l'électrode varie rapidement d'un potentiel à l'autre, une molécule A peut être oxydée en  $A^+$  (1) et ensuite réduite en  $A^-$  (2) à la surface de la même électrode. Ces deux formes vont ensuite réagir ensemble dans la couche de diffusion et former l'état excité  $A^*$  (3) qui va émettre un photon lors de son retour à l'état fondamental (4).

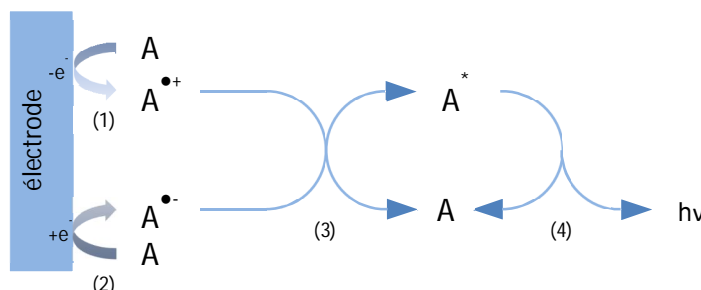


Figure II. 2 : Schéma du mécanisme de génération de l'ECL par annihilation

La réaction d'annihilation (3) peut aussi se produire avec un système « mixte », c'est-à-dire lorsque le radical cation et le radical anion ne sont pas issus de la même molécule.

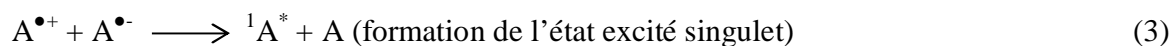
Pour que l'état excité soit généré, certaines conditions doivent être respectées. En premier lieu, les réactions d'oxydation et de réduction doivent être réversibles afin que la réaction d'annihilation (3) puisse avoir lieu. Ensuite, l'énergie provenant de cette réaction doit être suffisante pour permettre à l'une des deux espèces d'atteindre un état excité. On distinguera deux états excités possibles de la molécule  $A^*$  en fonction de l'énergie disponible : soit un état excité singulet ( $^1A^*$ ), soit un état excité triplet ( $^3A^*$ ). L'enthalpie de la réaction d'annihilation ( $-\Delta H_{\text{ann}}$ ) peut être estimée à partir des potentiels redox ( $E_p$ , potentiel du pic) des réactions (1) et (2) selon l'équation 1. Le terme constant de 0,16 eV correspond à une approximation du terme entropique ( $T\Delta S$ ) à 25 °C (0,10 eV) auquel on ajoute 0,057 eV qui correspond à la différence entre deux pics pour une réaction d'oxydo-réduction à un électron.<sup>18,32</sup> Il est également possible d'estimer l'énergie nécessaire à l'électron pour atteindre l'état excité singulet  $E_S$  (équation 2).

$$-\Delta H_{\text{ann}} = \Delta G + T\Delta S = E_p(\text{ox}) - E_p(\text{red}) - 0,16 \quad (1)$$

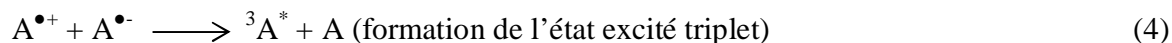
$$E_S = hc/\lambda_{\text{ém}} = 1239,81/\lambda_{\text{ém}} \quad (2)$$

où  $\lambda_{\text{ém}}$  est la longueur d'onde d'émission,  $h$  la constante de Planck et  $c$  la vitesse de la lumière.

Si l'enthalpie estimée par l'équation 1 est supérieure à l'énergie  $E_S$  nécessaire pour atteindre l'état excité singulet le plus bas depuis l'état fondamental, la réaction d'annihilation permet alors de générer directement l'espèce  $^1A^*$ . Dans ce cas on dit alors que la réaction suit la « voie S ».



Dans le cas contraire, si l'enthalpie est inférieure à  $E_S$  mais supérieure à l'énergie de l'état excité triplet  $E_T$ , c'est l'espèce  $^3A^*$  qui est formée (équation (4)). Par la suite l'annihilation triplet-triplet (équation 5) va permettre la formation de l'état excité  $^1A^*$ . Ce mécanisme est appelé la « voie T ».





La génération d'ECL par annihilation présente néanmoins plusieurs inconvénients. Les potentiels qui doivent être atteints pour générer les deux espèces oxydées et réduites sont souvent élevés et les bornes des gammes de potentiels de l'électrolyte support et du solvant peuvent limiter son utilisation. Par exemple cette réaction n'est pas possible en solution aqueuse car l'oxydation ou la réduction de l'eau intervient avant celle de A. D'une manière générale ces expériences nécessitent l'utilisation de solvants organiques distillés et dégazés dans le but d'éviter le quenching de l'ECL par les molécules de dioxygène.<sup>19</sup>

### I.3. Génération d'ECL avec un co-réactif

La découverte de la génération de l'ECL avec un co-réactif a été une avancée majeure dans le développement de l'ECL. En effet la plupart des systèmes ECL actuels et notamment toutes les applications commerciales, sont basés sur l'utilisation d'un co-réactif. Contrairement à l'annihilation, la génération d'ECL peut se faire dans des milieux aqueux, non dégazés et en appliquant un seul potentiel soit anodique soit cathodique. En fonction du potentiel appliqué, les deux espèces peuvent être oxydées ou réduites, et en général l'intermédiaire formé issu du co-réactif sera un puissant réducteur (ou oxydant) qui pourra réagir avec la forme oxydée (ou réduite) du luminophore, afin de générer l'état excité.

Il existe de nombreux co-réactifs différents permettant de générer de l'ECL. Cependant, dans la suite de cette partie, nous décrirons uniquement les co-réactifs qui ont été utilisés lors de notre étude. De plus, les mécanismes seront illustrés avec le complexe  $Ru(bipy)_3^{2+}$  car c'est le luminophore le plus utilisé dans les applications ECL, mais c'est également celui que nous avons sélectionné pour notre étude.

#### I.3.1. Utilisation des ions oxalate comme co-réactif

Les ions oxalate sont les ions qui ont permis la découverte de la génération de l'ECL par l'intermédiaire d'un co-réactif.<sup>26</sup> Par la suite, de nombreuses études destinées à comprendre le mécanisme ont été réalisées par l'équipe de Bard sur le couple oxalate/ $Ru(bipy)_3^{2+}$ .<sup>33-37</sup> Les premières études ont été réalisées dans un solvant organique, l'acétonitrile<sup>26</sup>, puis plus tard en

solution aqueuse.<sup>34-36</sup> En solution aqueuse, la première espèce à s'oxyder à l'électrode, lorsque les potentiels anodiques sont balayés, est le complexe de ruthénium qui va alors former  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{3+}$  Figure II. 3 (1). Le cation ainsi formé va ensuite réagir avec l'oxalate dans la couche réactionnelle au voisinage de l'électrode pour former un radical anion Figure II. 3 (2). Ce dernier va alors se décomposer en un nouveau radical anion, qui est très réducteur (3), et en dioxyde de carbone. Ce fort réducteur est capable non seulement de réduire le  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{3+}$  (4) mais peut également réduire le  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$  n'ayant pas réagi à l'électrode (5). De ce fait, l'état excité peut être atteint de deux manières différentes, soit par transfert d'électron direct entre le luminophore et le co-réactif (4), soit par une réaction d'annihilation entre deux complexes de ruthénium (6).

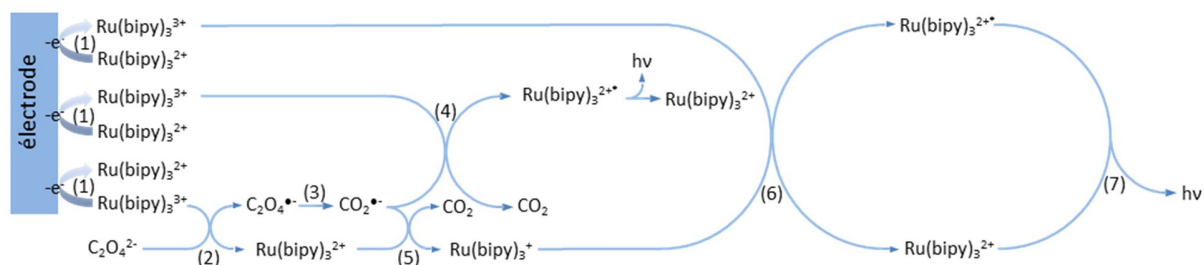


Figure II. 3 : Schéma du mécanisme de génération de l'ECL avec l'oxalate en solution aqueuse. Adapté de <sup>36</sup>.

Lorsque le co-réactif n'est pas directement oxydé à l'électrode comme dans le cas précédent, on dit alors qu'il est oxydé par voie catalytique. Dans l'acétonitrile, le mécanisme de génération d'ECL est beaucoup plus simple car les ions oxalate s'oxydent à l'électrode Figure II. 4 (b) à un potentiel plus faible que le  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$ . Les radicaux anions sont alors directement formés à la surface de l'électrode, se décomposent et peuvent réduire le  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{3+}$ , également formé à l'électrode, pour générer l'état excité.

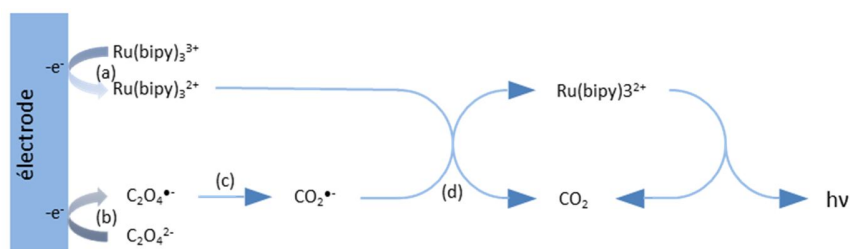


Figure II. 4 : Mécanisme de génération de l'ECL avec les oxalates dans l'acétonitrile. Adapté de <sup>36</sup>.

### I.3.2. Utilisation des amines tertiaires

Les premières études réalisées avec les amines tertiaires datent du début des années 1990.<sup>27,28</sup> Rapidement le couple TPrA/Ru(bipy)<sub>3</sub><sup>2+</sup> devient le couple de référence, car il est identifié comme celui qui permet d'obtenir des signaux ECL les plus intenses.<sup>18,20</sup> Le mécanisme de génération de l'ECL de ce couple est relativement complexe et a fait l'objet de nombreux travaux.<sup>38-40</sup> Plusieurs mécanismes sont alors proposés par Miao et Bard<sup>40</sup> qui peuvent soit intervenir indépendamment, soit coexister (Figure II. 5). Dans le premier mécanisme proposé, la TPrA seule est oxydée à la surface de l'électrode. Les espèces alors générées vont permettre de porter le complexe de ruthénium dans son état excité. Dans les mécanismes 2 et 3, le co-réactif ainsi que le luminophore réagissent à l'électrode. Les espèces formées vont ensuite réagir entre elles pour former l'état excité soit par transfert d'électron entre un radical et le luminophore (mécanisme 3), soit par annihilation (mécanisme 2). Et finalement, dans le quatrième, la TPrA est oxydée de façon catalytique par l'intermédiaire du Ru(bipy)<sub>3</sub><sup>3+</sup> qui est électrogénéré.

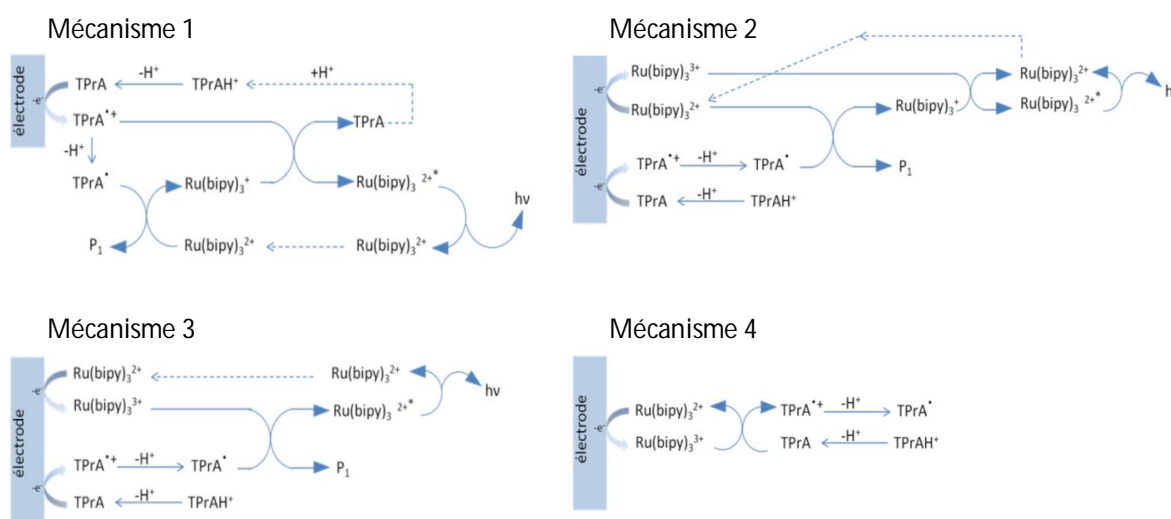


Figure II. 5 : Mécanismes possibles de génération de l'ECL du couple Ru(bipy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>/TPrA

En résumé, pour ce couple, l'état excité du ruthénium peut être atteint par 3 voies différentes :

- 1) Par oxydation du Ru(bipy)<sub>3</sub><sup>2+</sup> par le radical cation TPrA<sup>•+</sup> (mécanisme 1)
- 2) Par annihilation entre le Ru(bipy)<sub>3</sub><sup>3+</sup> et le Ru(bipy)<sub>3</sub><sup>2+</sup> (mécanisme 2)



### 3) Par réduction du $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{3+}$ par le radical $\text{TPrA}^\bullet$ (mécanisme 3)

Ces mécanismes semblent coexister, cependant les conditions expérimentales utilisées lors d'une expérience vont favoriser un mécanisme par rapport à un autre. Par exemple, l'oxydation de la TPrA est plus facile à la surface d'électrode en carbone vitreux qu'à la surface d'électrode en or ou en platine, à cause de la formation d'une couche d'oxyde.<sup>38</sup> L'hydrophobie de la surface de l'électrode a aussi une influence sur l'oxydation de la TPrA et sur l'intensité du signal ECL observé.<sup>41-44</sup> Les travaux de Richter ont permis de montrer que l'ajout de tensioactif comme le Triton X-100 a pour effet d'augmenter l'intensité du signal ECL d'un facteur 8.<sup>42</sup> En effet, les complexes métalliques interagissent avec les molécules ou les micelles de tensioactif par le biais de liaisons hydrophobes, ce qui impacte les propriétés de luminescence du complexe.

D'autres co-réactifs à base d'amine tertiaire ont été étudiés. D'une manière générale, toutes les amines aliphatiques qui possèdent un proton en alpha de l'azote peuvent se déprotoner après oxydation et former un radical fortement réducteur. Une autre amine tertiaire récemment étudiée est le dibutylaminoéthanol (DBAE).<sup>45</sup> Ce nouveau co-réactif semble très prometteur, car l'intensité ECL enregistrée avec le  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$  à la surface d'électrode d'or et de platine est 10 fois et 100 fois plus intense que celle observée avec le couple  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}/\text{TPrA}$ . De plus par rapport à la TPrA, le DBAE a l'avantage d'être plus hydrophile, moins toxique, plus soluble et moins volatile. Tous ces avantages en font un sérieux candidat pour remplacer la TPrA, notamment dans les applications d'immunodosage et de détection d'ADN.

## I.4. Applications de l'ECL

Comme nous l'avons déjà mentionné, l'utilisation de l'ECL dans différents systèmes analytiques a pu être développée, comme par exemple avec l'électrophorèse capillaire, la chromatographie liquide haute performance, et l'analyse par injection en flux continu.<sup>18</sup> L'utilisation de l'ECL comme méthode de détection apporte de nombreux avantages pour le développement de ces techniques : sensibilité, contrôle spatial et temporel, faible bruit de fond, temps de réponse rapide et analyse de faible volume. Le plus souvent le luminophore utilisé est le complexe de  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$  et permet la détection de nombreux composés ayant une activité biologique (par exemple dosage de drogues ou de médicaments).

L'utilisation de l'ECL pour le diagnostic médical est l'application commerciale la plus développée. Bien qu'un grand nombre de biomolécules tels que l'ADN, les protéines ou les peptides ne peuvent pas être utilisés ni comme co-réactifs ni comme luminophores, leur dosage est toutefois possible en les immobilisant sur un substrat solide contenant le marqueur ECL. Par exemple, Miao et Bard ont élaboré une méthode permettant de doser des brins d'ADN.<sup>46</sup> Le principe est illustré Figure II. 6.

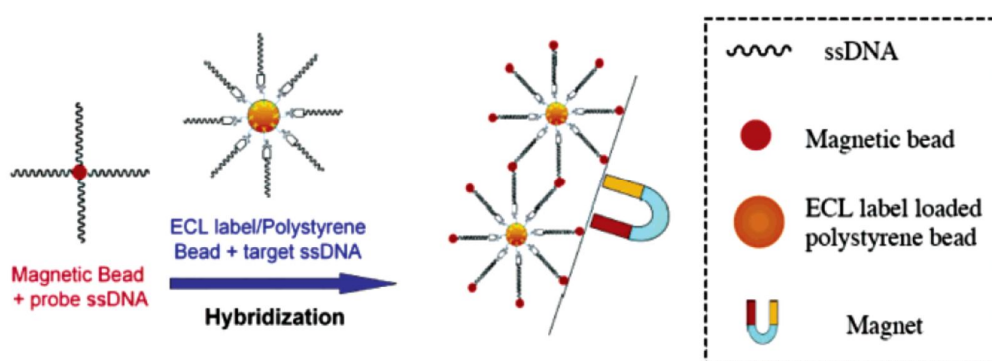


Figure II. 6 : Schéma de principe de la détection d'ADN par ECL. Extrait de <sup>46</sup>.

Des billes magnétiques et des billes de polystyrène contenant le marqueur ECL, sont fonctionnalisées avec des brins d'ADN. Après hybridation, l'ensemble est alors isolé du reste du milieu à la surface d'une électrode, permettant ainsi de générer un signal ECL qui sera proportionnel à la quantité de brin d'ADN cible porteur des luminophores.

La génération d'ECL sur support solide permet également de détecter et de doser spécifiquement des brins d'ADN,<sup>46</sup> des antigènes,<sup>47,48</sup> mais aussi de suivre l'évolution de la protéolyse dans le temps. Par exemple, Roche Diagnostic<sup>31</sup> et Meso Scale Discovery<sup>30</sup> ont développé plusieurs gammes d'analyseurs utilisant la détection par ECL. L'un de ces appareils est le SECTOR IMAGER 6000® qui permet l'analyse multiplexée de centaines d'échantillons en une mesure grâce à l'utilisation de plaques qui contiennent plusieurs puits.

L'ECL est également une technique très intéressante car elle permet de générer de la lumière par une excitation électrochimique, même à la surface d'électrodes mobiles, tels que des nageurs manipulés par électrochimie bipolaire.<sup>49</sup>

Jusqu'à présent, la technique d'ECL n'a jamais été appliquée aux microgels stimulables. Dans la suite de ce chapitre, nous allons présenter notre étude sur le développement d'une nouvelle gamme de microgels thermosensibles porteurs d'émetteurs ECL. Tout d'abord nous allons décrire les outils expérimentaux nécessaires à la synthèse et à la caractérisation des matériaux, puis nous présenterons les résultats obtenus.

## II. Méthodes expérimentales dédiées à l'étude des microgels ECL

### II.1. Préparation des matériaux

#### II.1.1. Stratégie de synthèse

Notre choix s'est porté sur les microgels thermosensibles à base de poly(NIPAM) (ou plus généralement de N-alkylacrylamide) dont les propriétés sont bien connues, auxquels sera incorporé le  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$  comme émetteur ECL, étant donné sa solubilité dans l'eau et sa forte luminescence.

La synthèse de microgels à base de poly(NIPAM) comportant des motifs  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$  a été décrite dans le cadre de l'étude de microgels couplés à des réactions oscillantes de type Belousov-Zhabodinsky.<sup>50-53</sup> Nous nous sommes donc appuyés sur ces travaux pour faciliter l'étape de synthèse.

Les microgels sont préparés selon une réaction de polymérisation par précipitation, comme celle décrite dans le chapitre I. Le  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$  est incorporé par copolymérisation d'un monomère porteur de cette fonction. Le monomère est le (4-vinyl-4'-methyl-2,2'-bipyridine)bis(2,2'-bipyridine), noté  $\text{mRu}(\text{bipy})_3^{2+}$ . Il est combiné avec des alkylacrylamides, de longueurs de chaînes différentes, en vue d'obtenir des microgels possédant différentes transitions de phase volumique. Parmi les monomères précurseurs de polymères thermosensibles, nous avons utilisé le NIPAM mais également le N-n-propylacrylamide (NNPAM) et le N-isopropylmethacrylamide

(NIPMAM) dont les LCST des homopolymères correspondant sont respectivement de 32 °C, 20 °C et 44 °C.<sup>54,55</sup> La structure chimique des différents monomères est présentée Figure II. 7.

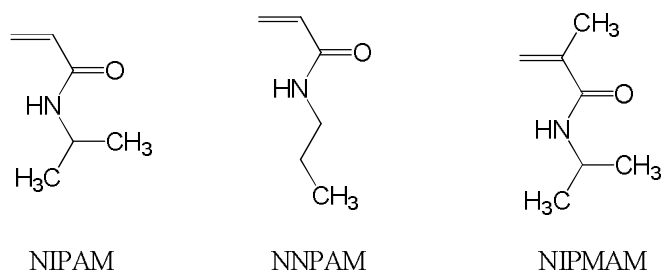


Figure II. 7 : Structure chimique du NIPAM, du NNPAM et du NIPMAM

Le principe général de cette synthèse est représenté sur la Figure II. 8. D'autres co-monomères peuvent également être incorporés pour conférer une autre sensibilité à un stimulus (cf partie IV) ou pour greffer un autre luminophore (cf partie V).

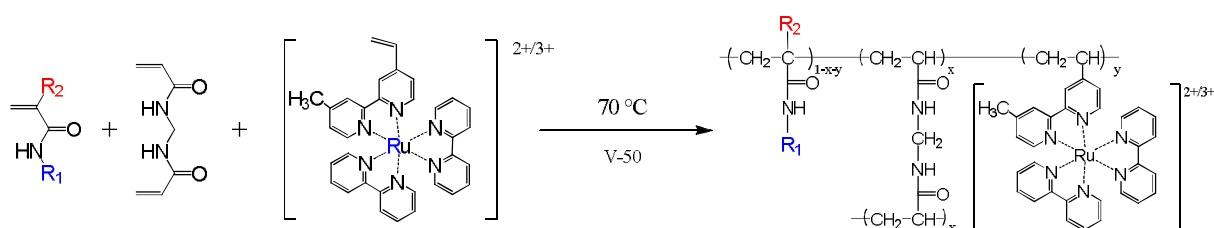


Figure II. 8 : Schéma du principe général de la synthèse des microgels selon la méthode de polymérisation par précipitation.

### II.1.2. Synthèse du (4-vinyl-4'-methyl-2,2'-bipyridine)bis(2,2'-bipyridine)

La synthèse de ce composé a été décrite par l'équipe de Collum.<sup>56</sup> Elle se fait en 4 étapes dont les 3 premières consistent à greffer un alcène sur le 4,4'-diméthyl-2,2'-bipyridine. Dans la première étape, un échange entre un hydrogène d'un groupement méthyl du 4,4'-diméthyl-2,2'-bipyridine (1) et un atome de lithium du diisopropylamide de lithium (LDA) est réalisé. Le 4-méthyl-4'-methoxyéthyl-2,2'-bipyridine (2) est ensuite formé par substitution nucléophile avec du méthyl chlorométhyle éther (cf Figure II. 9).

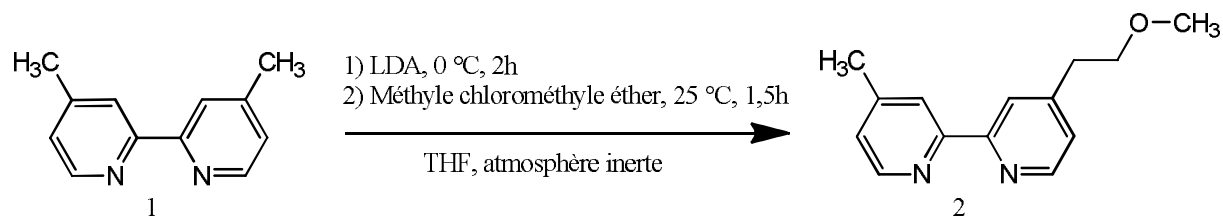


Figure II. 9 : Schéma de la première étape de la synthèse du  $mRu(bipy)_3^{2+}$ .

L'agent de métallation est réalisé dans le milieu réactionnel à faible température et sous atmosphère neutre car il est très réactif avec l'eau.

Dans l'étape suivante, une nouvelle substitution nucléophile est réalisée entre le produit de l'étape (2) précédente et de l'acide bromhydrique concentré (cf Figure II. 10).

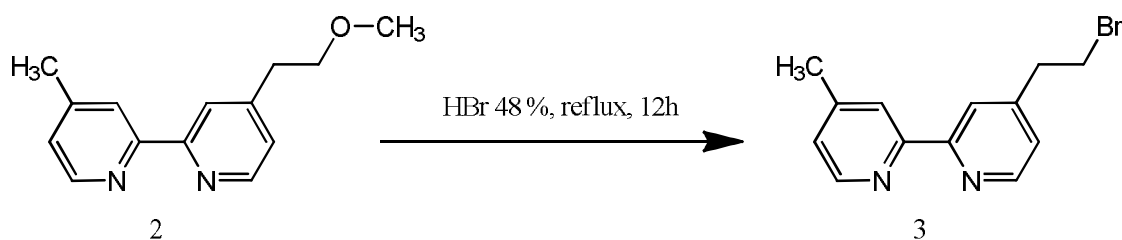


Figure II. 10 : Schéma de la seconde étape de la synthèse du  $mRu(bipy)_3^{2+}$ .

Les conditions de réaction permettent la formation du 4-méthyl-4'-vinyl-2,2'-bipyridine (4) avec un rendement compris entre 5 à 10 % par élimination du brome. Ce produit secondaire n'affecte pas le rendement global des trois premières étapes, car c'est le produit final obtenu au cours de la troisième étape.

La troisième étape consiste en une  $\beta$ -élimination du brome pour former le 4-méthyl-4'-vinyl-2,2'-bipyridine (4) en présence d'une base faible le carbonate de potassium  $K_2CO_3$  (cf Figure II. 11).

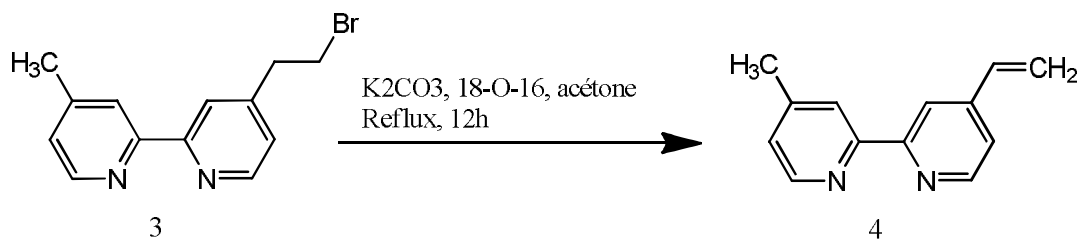


Figure II. 11 : Schéma de la troisième étape de la synthèse du  $mRu(bipy)_3^{2+}$ .

La grande affinité de l'éther couronne 18-O-6 pour les cations alcalins permet la dissociation du sel inorganique dans le solvant organique.

La dernière étape consiste en un échange de ligand entre le 4-méthyl-4'-vinyl-2,2'-bipyridine (4) et les contre-ions chlorure du  $Ru(II)(bipy)_2Cl_2$  (5) (cf Figure II. 12). La précipitation du complexe est alors provoquée en substituant les contre-ions chlorure par des hexafluorophosphates ( $PF_6^-$ ) hydrophobes. Le rendement global de la réaction est estimé à 58 %.

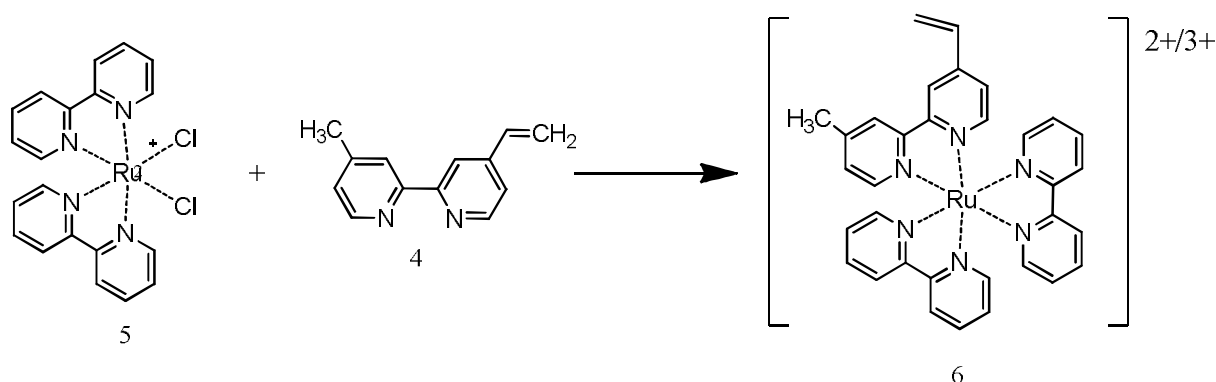


Figure II. 12 : Schéma de la dernière étape de la synthèse du  $mRu(bipy)_3^{2+}$ .

$^1H$  NMR (400 MHz) du  $mRu(bipy)_3^{2+}$  (acetone- $d_6$ )  $\delta$  : 2,55 (s, 15H), 5,7 (d, 1H;  $J=1,6Hz$ ), 6,35 (d, 1H;  $J=1,6Hz$ ), 6,9 (q, 1H;  $J=3,2Hz$ ), 7,38 (s, 4H), 7,57 (s, 2H), 7,81 (s, 4H), 7,91 (s, 2H), 8,65 (s, 4H), 8,84 (s, 2H).

### II.1.3. Synthèse du N-n-propylacrylamide

Ce monomère n'étant plus commercialement disponible et sa synthèse étant relativement simple, nous avons alors choisi de le synthétiser nous-mêmes au laboratoire suivant le protocole décrit par Pardin *et al.*<sup>57</sup> La synthèse se fait en une seule étape (cf Figure II. 13) qui consiste en l'ajout de chlorure d'acryloyl (a) dans une solution de propylamine (b).

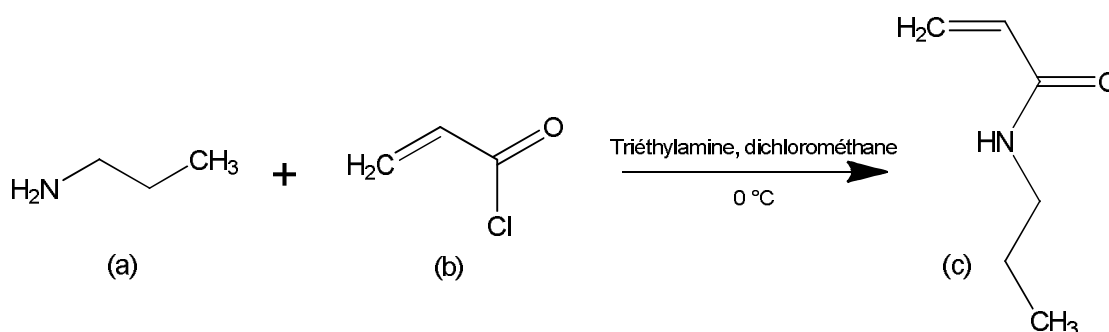


Figure II. 13 : Schéma de la réaction de synthèse du NNPAM

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz) du NNPAM ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  : 6,25 (dd, 1H,  $J = 1,5, 16,9$  Hz), 6,06 (dd, 1H,  $J = 1,5, 16,9$  Hz), 5,60 (dd, 1H,  $J = 1,5, 10,2$  Hz), 3,28 (q, 2H,  $J = 6,4$  Hz), 1,54 (m, 2H), 0,92 (t, 3H,  $J = 7,4$  Hz).

### II.1.4. Synthèse des microgels

La synthèse des microgels consiste en une polymérisation radicalaire par précipitation, dont le mécanisme a été explicité au chapitre I. Pour ce faire, une solution contenant les 3 monomères constitutifs représentés en Figure II. 8 : le dérivé N-alkylacrylamide, le réticulant N,N'-méthylènebisacrylamide (BIS) et le co-monomère ECL  $\text{mRu}(\text{bipy})_3^{2+}$ . La concentration totale en monomère est de 70 mM. Le pourcentage molaire x de réticulant BIS est gardé constant et égal à 1,5%. On introduit un pourcentage molaire y de  $\text{mRu}(\text{bipy})_3^{2+}$ . La réaction est amorcée par décomposition thermique de 2,2'-azobis(2-amidinopropane)dihydrochloride (1,5 mM) noté V-50, qui produit des radicaux chargés positivement. Ceux-ci sont choisis pour leur charge qui est de même signe que le  $\text{mRu}(\text{bipy})_3^{2+}$  que l'on souhaite introduire par copolymérisation.

L'ensemble des monomères est alors dissout dans l'eau désionisée, sauf le  $\text{mRu}(\text{bipy})_3^{2+}$  qui est solubilisé dans un premier temps avec quelques gouttes d'acétone qualité HPLC, avant d'être ajouté à la solution. Après filtration, la solution est chauffée et dégazée pendant 1 h avant amorçage. La polymérisation se poursuit sous agitation et bullage d'azote pendant au moins 6 h. Afin d'éliminer les monomères n'ayant pas réagi, les microgels sont purifiés par dialyse dans de grands volumes d'eau désionisée pendant plusieurs jours. La petite taille des microgels obtenus ne permet pas une purification par centrifugation. Les structures obtenues sont notées  $\text{NiRu}/0y$ . Lorsque le NNPAM est utilisé comme monomère alkylacrylamide, l'échantillon est alors nommé de la manière suivante :  $\text{NNRu}/0y$ . La synthèse de microgels avec le monomère NIPMAM seul n'a pas permis d'obtenir des microgels avec une distribution convenable. Ceci peut s'expliquer par une trop grosse différence de réactivité entre les monomères de NIPMAM et de  $\text{mRu}(\text{bipy})_3^{2+}$ . Nous avons alors choisi d'utiliser un mélange de 50 % molaire de NIPAM et 50 % molaire de NIPMAM. Cet échantillon est noté  $\text{NiMRu}/0y$ .

Dans la deuxième partie de l'étude, pour conférer aux microgels une sensibilité au glucose, un quatrième co-monomère est ajouté : l'acide 3-acrylamidophénylboronique, noté AAPBA. Pour cette étude nous avons utilisé le NIPMAM comme monomère N-alkylacrylamide afin d'obtenir des matériaux dont la transition de phase ne soit pas inférieure à 10 °C. Le pourcentage molaire d'AAPBA introduit, noté  $z$ , est maintenu constant à 10%. Le protocole de synthèse est inchangé, seule la quantité de NIPMAM est diminuée au profit de l'AAPBA, pour que la concentration en monomère soit toujours égale à 70 mM. L'AAPBA est dissout dans l'eau désionisée en même temps que le NIPAM et le BIS. Les échantillons sont alors notés  $\text{Ru}/0y\text{PBA}_z$ .

Dans la troisième partie de l'étude, un autre co-monomère porteur d'une fonction amine, le N-(3-aminopropyl)méthacrylamide (APM), est copolymérisé avec le NIPAM, le BIS et le  $\text{mRu}(\text{bipy})_3^{2+}$  en vue d'un post-greffage. Le pourcentage molaire d'APM introduit lors de la synthèse est noté  $w$ . Ce dernier est ajouté dans l'eau désionisée en même temps que le NIPAM et le BIS. L'ajout de ce monomère cationique dans la synthèse a nécessité plusieurs tests avant d'obtenir des microgels ayant une taille et une monodispersité convenable. Pour améliorer l'incorporation des deux monomères cationiques dans la même matrice polymère, les synthèses ont été réalisées en présence de sel (30 mM), afin de limiter les répulsions électrostatiques entre



les chaînes en croissance et les monomères chargés. Cependant l'ajout de sel diminue également les répulsions électrostatiques entre les particules en croissance, ce qui provoque l'agrégation et la réticulation interparticule. Une série de tests nous a permis de déterminer la concentration optimale en sel, qui permet d'écranter les charges électrostatiques sans provoquer d'agrégation, qui est de 30 mM. Toutes les synthèses sont alors réalisées dans ces conditions bien que la composition des microgels en monomère cationique soit modifiée. Plusieurs échantillons contenant des pourcentages molaires en APM et en  $\text{mRu}(\text{bipy})_3^{2+}$  différents ont été synthétisés. Les différents échantillons sont identifiés de la manière suivante : Ru10yAP10w.

Pour les besoins de notre étude nous avons également préparé des microgels composés de NIPAM de  $\text{mRu}(\text{bipy})_3^{2+}$  et d'APM ayant une structure interne du type cœur-écorce. Le cœur de ces microgels est composé de NIPAM de BIS et d'APM alors que dans l'écorce, l'APM est remplacé par le  $\text{mRu}(\text{bipy})_3^{2+}$  (cf Figure II. 14).

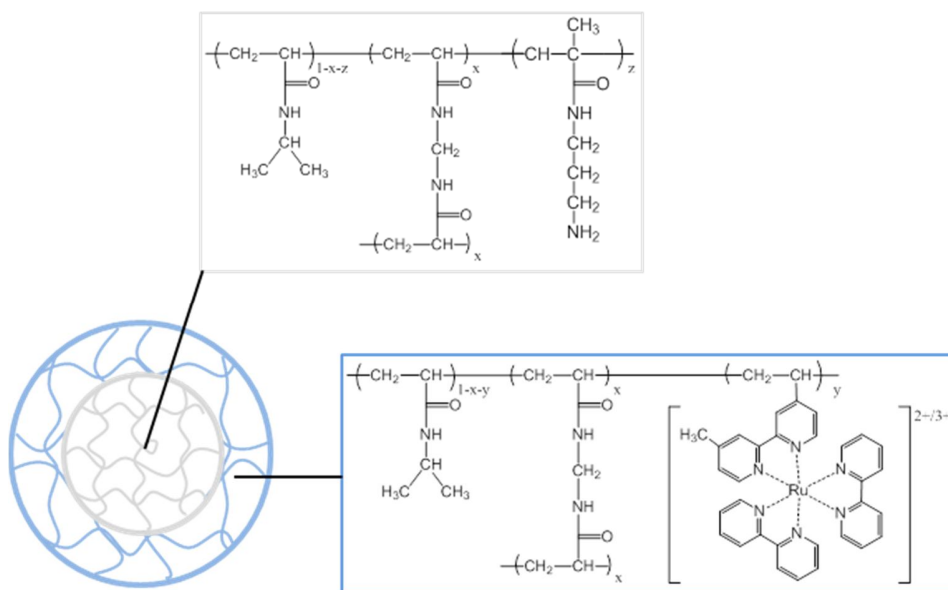


Figure II. 14 : Schéma et structure chimique des microgels cœur-écorce.

Ces matériaux sont préparés grâce à une synthèse en deux étapes. La première étape, qui est la préparation des cœurs, est réalisée selon le principe de la polymérisation radicalaire par précipitation. La concentration totale en monomère est de 70 mM. Les pourcentages molaires de

BIS et d'APM respectivement x et z sont de 1,5 %. La réaction est amorcée par décomposition thermique du V-50. L'ensemble des monomères est alors dissout dans l'eau désionisée. Un tensioactif, le tétradécyltriméthylammonium bromure (TTAB) (0,5 mM), est alors ajouté à la solution dans le but de diminuer le diamètre des objets en fin de synthèse. L'ajout de tensioactif permet de réduire le diamètre des microgels. Le TTAB a été choisi pour ses charges positives afin d'éviter l'apparition d'interactions attractives entre l'amorceur, les complexes de ruthénium et les molécules tensioactives. Après filtration, la solution est chauffée et dégazée pendant 1 h avant amorçage. La polymérisation se poursuit sous agitation et bullage d'azote pendant au moins 6 h. Avant de réaliser la seconde étape de cette synthèse, les cœurs sont purifiés par dialyse dans de grands volumes d'eau afin d'éliminer les polymères linéaires hydrosolubles. La deuxième étape consiste à synthétiser une écorce de microgels autour des cœurs. Pour cela 7,5 mL de la solution de cœur sont prélevés et dilués avec 10 mL d'eau désionisée. La solution est chauffée à 70 °C et dégazée par bullage d'azote. En parallèle, le NIPAM, le BIS et le  $\text{mRu}(\text{bipy})_3^{2+}$  (dissout initialement dans de l'acétone) sont dissouts dans 6,5 mL d'eau désionisée (la concentration totale en monomère est de 80 mM). Les pourcentages molaires x et y respectivement de BIS et de  $\text{mRu}(\text{bipy})$  introduits sont de 1,5 %. Cette dernière solution est alors ajoutée à la solution de cœurs. Après 1 h de dégazage à 70 °C la solution est amorcée avec le V-50 (1,5 mM). Après plusieurs tentatives, la synthèse de l'écorce n'est possible qu'en présence de 30 mM de sel, afin de diminuer les répulsions électrostatiques entre les cœurs cationiques et les polymères en croissance contenant le complexe de ruthénium. La polymérisation se poursuit sous agitation et bullage d'azote pendant au moins 6 h. Les microgels cœur-écorce sont purifiés par dialyse. Les microgels issus de cette synthèse sont alors notés AP15@Ru15.

### II.1.5. Fonctionnalisation par greffage

Afin d'étudier le transfert d'énergie entre molécules fluorescentes, les microgels sont fonctionnalisés avec un second fluorophore : la disulfo-cyanine-5-N-hydroxysuccinimide (cya5-NHS) dont la structure chimique est présentée Figure II. 15.

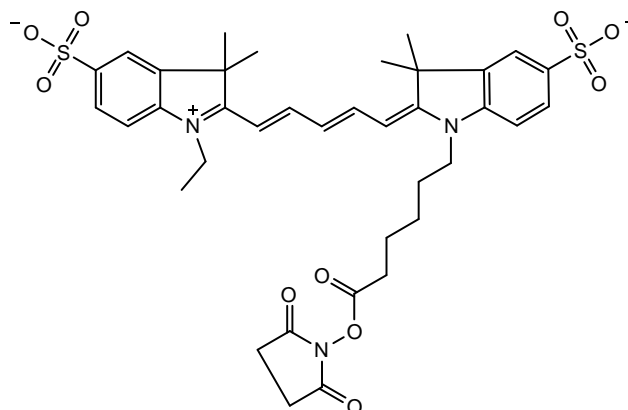


Figure II. 15 : Structure chimique de la Cya5-NHS.

La modification post-polymérisation des microgels se fait par formation d'une liaison amide entre les fonctions amines insérées dans les microgels et les acides carboxyliques activés par la fonction NHS dans une solution de tampon phosphate 4mM pH 7,4 (Figure II. 16). Les quantités de microgels et de Cya5-NHS ajoutées à la solution tampon sont calculées pour que le mélange contienne autant d'amine que de Cya5-NHS. L'incubation se fait à 4°C pour que les microgels soient dans l'état gonflé, ce qui favorise la diffusion de la cyanine dans la matrice polymère. Après 12 h d'incubation, les microgels sont une nouvelle fois purifiés par dialyse. Après fonctionnalisation, le nom de l'échantillon est modifié : les lettres AP sont remplacées par les lettres Cya, Ru10yAP<sub>w</sub> devient alors Ru10yCya<sub>w</sub>.

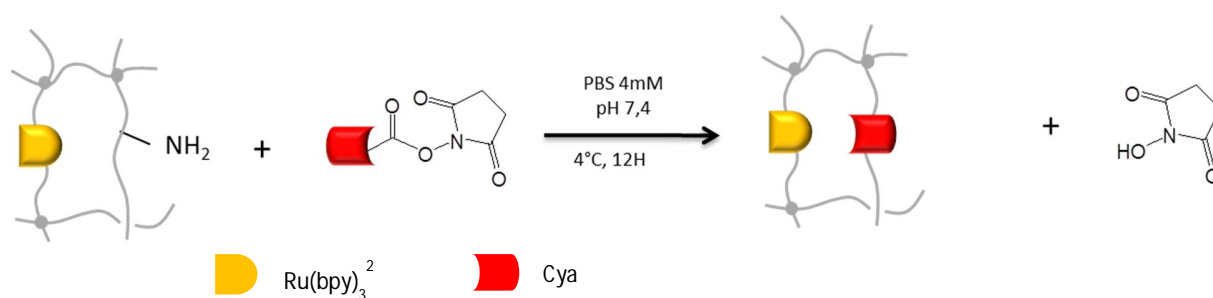


Figure II. 16 : Post-fonctionnalisation des microgels avec la Cyanine-5-NHS.

## II.2. Méthodes de caractérisation

### Diffusion dynamique de la lumière (DLS)

La technique de diffusion dynamique de la lumière permet de mesurer le diamètre hydrodynamique des particules en suspension dans un solvant de viscosité connue. Le mouvement brownien des particules est à l'origine de fluctuations temporelles de l'intensité diffusée. La corrélation entre l'intensité diffusée par les particules à un instant  $t$ , pris pour origine, et celle diffusée à un instant  $t+\Delta t$  peuvent être évaluées à l'aide de la fonction d'autocorrélation  $C(\Delta t)$ . Cette fonction est égale à l'unité lorsque  $\Delta t$  est nul et vaut 0 lorsque  $\Delta t$  est infiniment grand. Lorsque l'échantillon est monodisperse, la fonction d'autocorrélation décroît exponentiellement avec un temps caractéristique  $\tau_c$  :

$$\tau_c = \frac{1}{Dq^2} \quad (6)$$

où  $D$  est le coefficient de diffusion des objets et  $q$  le vecteur de diffusion défini par :

$$q = \frac{4\pi n}{\lambda} \sin \frac{\theta}{2} \quad (7)$$

avec  $n$  l'indice de réfraction du solvant,  $\lambda$  la longueur d'onde dans le vide du rayonnement incident et  $\theta$  l'angle de diffusion.

La relation de Stokes-Einstein permet alors de déduire le rayon hydrodynamique  $R_h$  des objets dispersés :

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta R_h} \quad (8)$$

Où  $k_B$  est la constante de Boltzmann,  $T$  la température et  $\eta$  la viscosité du solvant.

Le diamètre hydrodynamique moyen est calculé en utilisant la méthode des cumulants, qui consiste à déterminer le temps caractéristique à partir du logarithme de la fonction de corrélation. Si les objets avaient une taille unique, le logarithme serait une droite parfaite. Comme il s'agit d'une distribution en taille, l'écart à la linéarité traduit la largeur de la distribution. C'est cet écart

qui sert à établir l'indice de polydispersité (PDI). Les diamètres moyens que nous rapporterons dans la suite de ce manuscrit correspondent à une moyenne en intensité.

Les diamètres et les PDI des microgels sont déterminées à l'aide d'un Zetasizer Nano S-90 (Malvern Instruments) doté d'un laser HeNe et d'un système de détection à  $\theta = 90^\circ$ . Les mesures sont réalisées à la température souhaitée sur des solutions de microgels diluées (de 0,01 g/L à 0,05 g/L de polymères). Les données sont traitées par le logiciel fourni avec l'appareil.

### **Analyse élémentaire**

Le dosage du ruthénium de suspensions diluées de microgels est déterminé par spectroscopie d'émission atomique (ICPAES, Varian Liberty 220) équipé d'une torche à plasma d'hélium. Connaissant l'extrait sec en polymère, il est alors possible de remonter à la composition des microgels en  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$ .

### **Microscopie électronique à transmission (TEM)**

Le TEM permet d'observer les microgels dans leur état sec, par détection des électrons du faisceau primaire qui passent à travers l'échantillon. La structure des microgels est visualisée sur un microscope FEI Tecnai 12 biotwin (120 kV). Pour ce faire, 20  $\mu\text{l}$  de suspension de microgels est déposée sur une grille de cuivre recouverte d'un film de carbone (maillage : 200 Mesh). Le dépôt est ensuite absorbé par le dessous avec du papier filtre. L'observation des microgels nécessite l'ajout d'un agent de contraste électronique pour marquer les particules. L'acétate d'uranyle acidifié à 0,5% est utilisé, par dépôt de 10  $\mu\text{l}$  sur la grille qui est ensuite également adsorbé par le dessous.

### **Electrochimie**

Les expériences d'électrochimie sont réalisées avec un potentiostat  $\mu$ -Autolab Type III. Un montage à 3 électrodes est utilisé, comportant une électrode de carbone vitreux comme électrode de travail, une électrode d'argent ( $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}$ ) comme électrode de référence et un fil de platine joue le rôle de contre-électrode. La température de l'échantillon étudié est contrôlée grâce à un porte cuve thermostaté par effet Peltier Varian CARY SPVF 1x0 (cf Figure II. 17). Un temps d'équilibre de 15 min à la température considérée est appliqué avant chaque mesure.

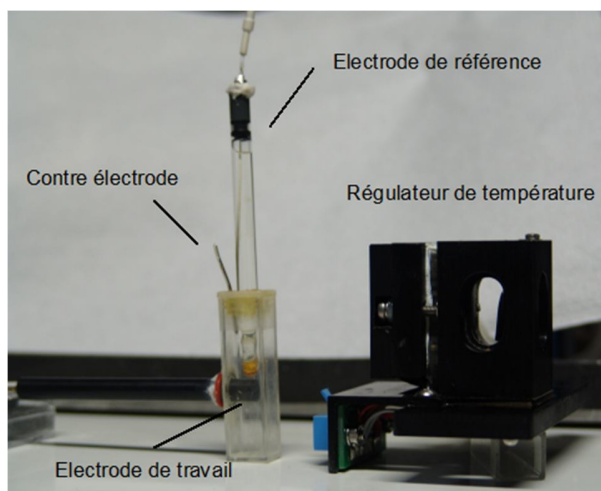


Figure II. 17 : Photo de la cellule utilisée pour les expériences d'électrochimie et d'ECL (à gauche) et du contrôleur de température à effet Peltier qui permet de thermostatier la cuve.

### **Electrochimiluminescence**

Les expériences d'ECL sont réalisées avec un potentiostat  $\mu$ -Autolab Type III et l'intensité ECL est mesurée avec un photomultiplicateur Hamamatsu R4632. Les spectres ECL sont enregistrés avec un spectrographe Princeton Instrument Spectra pro 2300i. Dans tous les cas, l'intensité ou les spectres d'ECL sont enregistrés pendant des expériences de voltampérométrie cyclique (CV). Cette technique consiste à mesurer le courant faradique, c'est-à-dire le courant dû aux réactions d'oxydo-réduction des espèces électroactives en solution, sur un intervalle de potentiel. Le potentiel évolue de façon linéaire à partir d'une valeur de départ jusqu'à une valeur limite qui sont prédéfinies. Une fois la valeur limite atteinte, le sens du balayage des potentiels est inversé. La même fenêtre de potentiel est alors balayée dans le sens opposé pour revenir au potentiel de départ. Les potentiels balayés lors de nos analyses sont compris entre 0,2 V et 1,45 V avec une vitesse de 50 mV/s. La suspension de microgels purifiés est diluée dix fois avec une solution de tampon phosphate 20 mM pH 8,5 ou pH 7,4, à laquelle est ajouté 10 mM de co-réactif (TPA ou DBAE ou oxalate). Cette technique permet non seulement d'obtenir des informations sur les réactions chimiques qui ont lieu mais également de déterminer pour quel potentiel la luminescence apparaît et pour quel potentiel l'émission est maximum.

### **Voltampérométrie à impulsion différentielle (DPV)**

Cette technique consiste à imposer une série d'impulsions de potentiel et de mesurer la différence de courant avant et après le saut. Chaque impulsion est de hauteur constante, mais le potentiel de départ est différent pour chaque mesure, ce qui permet de travailler sur un domaine de potentiel. Chaque différence de courant mesurée est représentée en fonction du potentiel atteint par le saut. Cette technique permet de détecter des espèces électrochimiquement actives même si la concentration de l'espèce en question est faible.<sup>58</sup> Les potentiels de départ et d'arrivée sont fixés respectivement à 0,2 V et 1,45 V. La valeur d'incrément du potentiel est de 0,011 V. Les échantillons sont dilués au quart avec une solution de tampon phosphate 80 mM pH 7,4.

### **Adsorption UV-Visible**

Les spectres d'absorption sont enregistrés avec un spectrophotomètre UV-Visible CARY 100 (CARY Eclipse). Les mesures sont réalisées dans une cuve en quartz de 3 mL thermostatée par le contrôleur de température à effet Peltier présenté Figure II. 17. Les échantillons sont dilués dans un tampon phosphate 20 mM pH 7,4 ou pH 8,5 en fonction de l'étude réalisée.

### **Photoluminescence**

Les spectres d'émission sont enregistrés avec un spectrophotomètre CARY Eclipse. Les expériences sont réalisées dans une cuve en quartz. La cuve est thermostatée avec le contrôleur de température à effet Peltier (cf Figure II. 17). Les longueurs d'onde utilisées pour le complexe de ruthénium et la Cya5 sont respectivement de 454 nm et 646 nm. Pour l'étude du transfert d'énergie le rapport des intensités de fluorescence est calculé à partir du maximum d'intensité de fluorescence de la Cya5 à 670 nm et celui du complexe de ruthénium à 610 nm. Les échantillons sont dilués dans un tampon phosphate 4 mM pH 7,4 ou pH 8,5 en fonction de l'étude réalisée.

Chaque étude des propriétés spectroscopiques en fonction de la température est réalisée sur un même échantillon. Après avoir enregistré le spectre à la température étudiée, la température de consigne est augmentée. Une fois la température de consigne atteinte, un temps d'équilibre de 10 min est attendu avant d'effectuer une nouvelle mesure.





## Chapitre II : Microgels électrochimiluminescents pour le développement d'une nouvelle gamme de biocapteurs

Tableau II. 1 : Microgels synthétisés et leurs caractéristiques

Nom	Nature du dérivé alkylacrylamide	% molaire de $\text{mRu}(\text{bipy})_3^{2+}$ introduit	% molaire de $\text{mRu}(\text{bipy})_3^{2+}$ incorporé <sup>i</sup>	$d_H$ (nm) T < VPTT (PDI)	$d_H$ (nm) T > VPTT (PDI)
« Réf »	<b>R1</b> : isopropyl <b>R2</b> : H	0	-	740 <sup>a</sup> (0,02)	293 <sup>d</sup> (0,04)
NiRu15	<b>R1</b> : isopropyl <b>R2</b> : H	1,5	0,6	137 <sup>a</sup> (0,05)	69 <sup>d</sup> (0,04)
NiRu25	<b>R1</b> : isopropyl <b>R2</b> : H	2,5	2	154 <sup>a</sup> (0,08)	91 <sup>d</sup> (0,06)
NNRu25	<b>R1</b> : n-propyl <b>R2</b> : H	2,5	1,6	160 <sup>b</sup> (0,02)	100 <sup>c</sup> (0,04)
NiMRu15	<b>R1</b> : isopropyl <b>R2</b> : H/CH <sub>3</sub>	1,5	0,5	190 <sup>c</sup> (0,07)	99 <sup>e</sup> (0,04)

<sup>i</sup> Pourcentage molaire de ruthénium incorporé dans les microgels déterminé par ICP-AES.

<sup>a</sup> : T = 25 °C ; <sup>b</sup> : T = 15 °C ; <sup>c</sup> : T = 35 °C ; <sup>d</sup> : T = 40 °C ; <sup>e</sup> : T = 50 °C

Après purification, les microgels obtenus ont une taille proche de 150 nm, ce qui est très petit comparé à la valeur mesurée pour l'échantillon « Réf », qui est uniquement composé de NIPAM et de BIS, et dont le diamètre est de 740 nm à 25 °C. En temps normal, les microgels ayant un diamètre comparable à ceux que nous avons préparés, sont issus de synthèse dont le milieu réactionnel contient des tensioactifs.<sup>59</sup> Ces résultats suggèrent que le  $\text{mRu}(\text{bipy})_3^{2+}$  est capable de stabiliser les particules en croissance lors de la polymérisation donnant ainsi naissance à des microgels dont le diamètre est plus faible. Cette tendance est aussi observée par l'équipe de Yoshida dès l'ajout de 0,01% molaire de  $\text{mRu}(\text{bipy})_3^{2+}$ .<sup>50</sup> On constate également que l'indice de polydispersité est inférieur à 0,1 ce qui indique que les microgels ont une taille homogène. Les microgels NiMRu15, composés de NIPAM et de NIPMAM, ont une taille légèrement plus importante que les échantillons à base de NIPAM contrairement aux microgels NN Ru25, dont le diamètre est comparable aux autres échantillons. Les clichés obtenus par microscopie électronique à transmission (TEM) permettent également d'apprécier l'homogénéité de la distribution de taille (Figure II. 19). Cette technique nous permet également de constater que les microgels sont sphériques et ils ne semblent pas avoir une structure interne particulière.

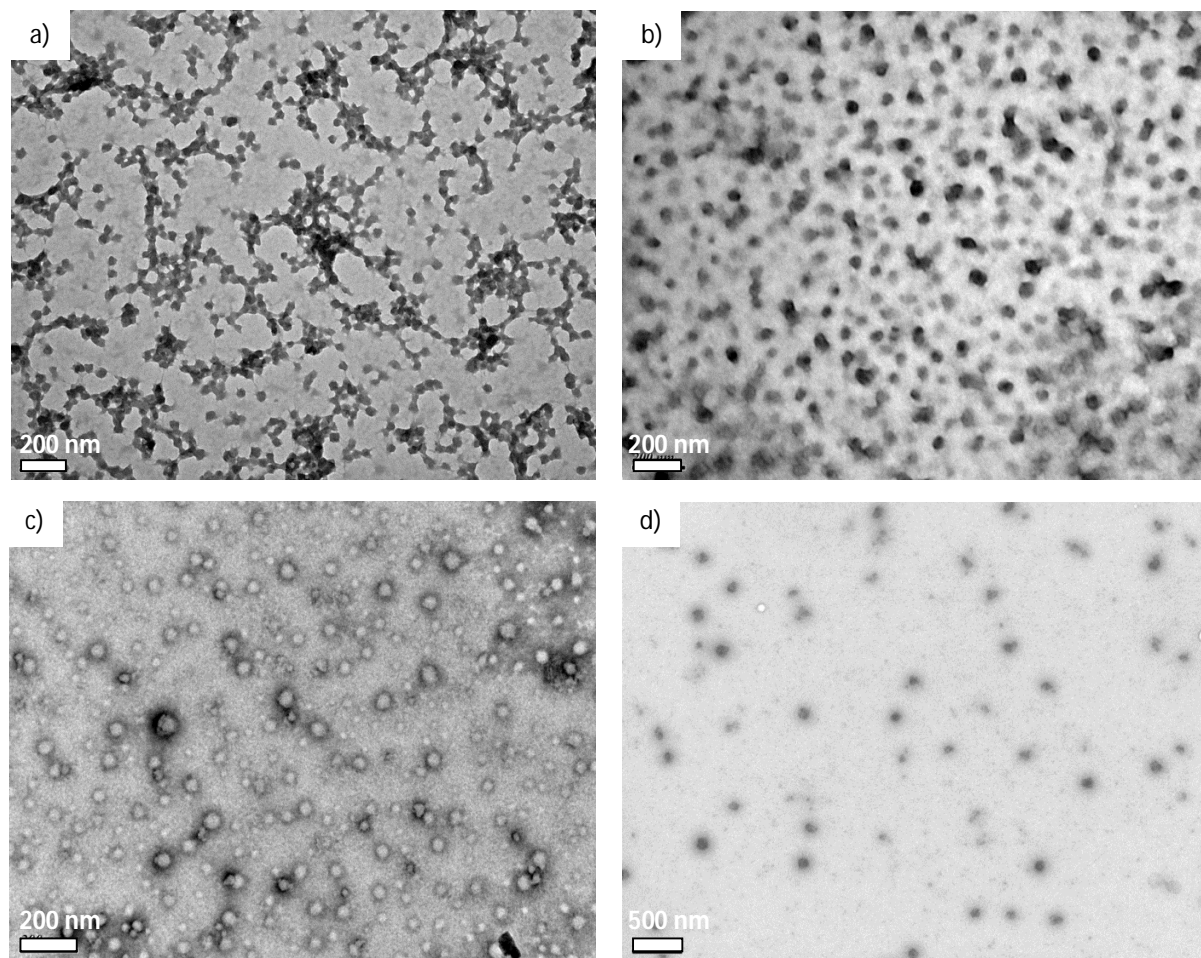


Figure II. 19 : Clichés TEM des microgels a) NiRu15 et b) NiRu25 c) NNRu25 et d) NiMRu15. Les microgels sont marqués avec de l'acétate d'uranyle. La barre d'échelle est de 200 nm pour a), b), c) et 500 nm pour d).

### III.2. Comportement des microgels en solution. Aspect stimuable

L'évolution du diamètre hydrodynamique en fonction de la température pour les quatre lots de microgels est présentée Figure II. 20. Il apparaît alors que l'incorporation du  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$  dans les microgels n'affecte pas la température de transition de phase volumique. En effet, on observe un domaine de transition entre un état gonflé par le solvant et un état contracté à la température rapportée dans la littérature (20 °C et 32 °C pour les microgels composés d'un seul type d'alkylacrylamide). Pour l'échantillon NiMRu15, la transition de phase a effectivement lieu pour une température intermédiaire à celle des microgels de poly(NIPAM) (32 °C) et celle des

microgels de poly(NIPMAM) (44 °C).<sup>60</sup> La transition de phase intervient à 37 °C. Notons que les transitions de phase sont moins abruptes que celles des microgels neutres, car la présence de charges s'oppose à la contraction du réseau. La présence de contre-ions exerce également une pression osmotique (effet Donnan).

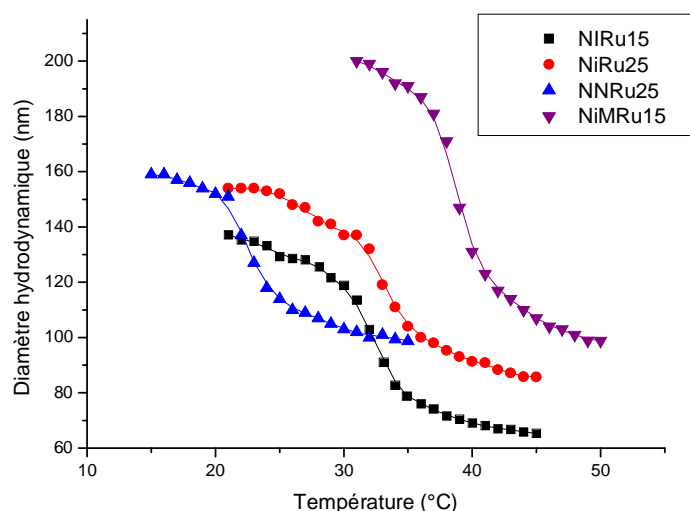


Figure II. 20 : a) Evolution du diamètre hydrodynamique des échantillons NiRu15 (■), NiRu25 (●), NNRu25 (▲) et NiMRu15 (▼) en fonction de la température dans une solution tampon phosphate 20 mM pH 7,4.

Dans le but de s'assurer que le complexe de ruthénium est incorporé avec succès dans la matrice polymère, nous avons étudié le comportement des microgels lorsque le ruthénium est oxydé en Ru(III) ou lorsque son état d'oxydation est maintenu à l'état Ru(II). Si le complexe est immobilisé dans la matrice, ce changement d'état d'oxydation va entraîner une modification de densité de charge des microgels, et donc une variation du taux de gonflement. Le contrôle de l'état d'oxydation est réalisé par voie chimique avec le couple cérium(IV)/cérium(III) capable de réagir spontanément avec le ruthénium.<sup>50</sup> L'évolution du diamètre en fonction de la température en présence de cérium(IV) ou de cérium(III) est présentée Figure II. 21. Il en résulte que le diamètre des microgels est légèrement plus élevé lorsque le ruthénium est oxydé que lorsqu'il est maintenu dans l'état d'oxydation Ru(II), ce qui est en accord avec la théorie de gonflement des gels dont le réseau est chargé. On observe

également qu'au-delà de 29 °C la taille augmente drastiquement à cause de l'apparition d'agrégats. Cette agrégation est liée à la valeur élevée de la force ionique imposée par les conditions d'analyse. Les répulsions électrostatiques sont alors faibles et n'apportent pas d'opposition aux forces de Van Der Waals présentes à température élevée.

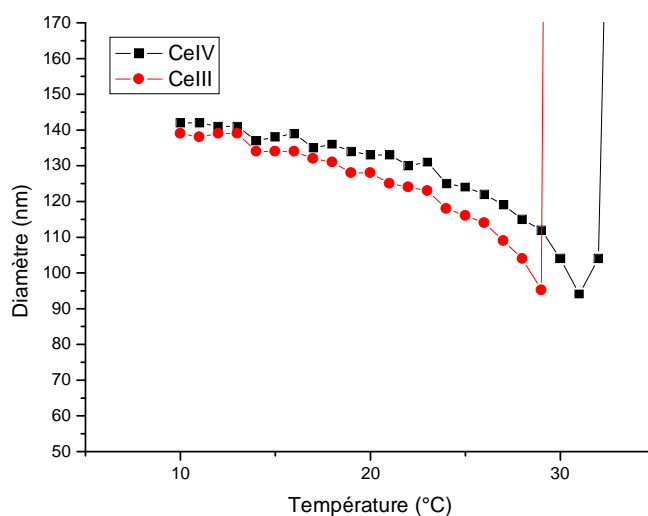


Figure II. 21 : Evolution du diamètre hydrodynamique de NiRu15 en fonction de la température en présence de 1 mM de  $Ce^{4+}$  (■) ou de  $Ce^{3+}$  (●) et 0,3M de  $HNO_3$ .

Deux séries de microgels présentant des teneurs différentes en ruthénium ont été synthétisées et caractérisées d'un point de vue granulométrique et morphologique. L'objectif est maintenant d'étudier les propriétés de luminescence en fonction de la température dans le but d'identifier une éventuelle influence de la transition de phase sur les propriétés optiques. Dans un premier temps nous allons étudier les propriétés de photoluminescence.

### III.3. Propriétés de photoluminescence

#### III.3.1. Propriétés spectroscopiques du complexe de ruthénium en solution

Avant de discuter des propriétés spectroscopiques des microgels, nous allons présenter celles du complexe de ruthénium(II)tris(2,2'-bipyridine) ( $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$ ), dont la structure est proche de celle du  $\text{mRu}(\text{bipy})_3^{2+}$ , en solution aqueuse. Les spectres d'émission et d'absorption du  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$  sont présentés Figure II. 22.

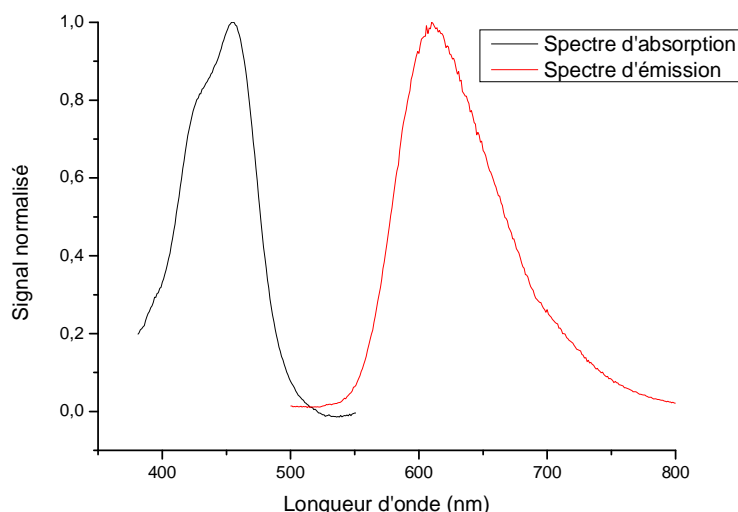


Figure II. 22 : Spectres d'absorption et d'émission du  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$ .  $\lambda_{\text{exc}} = 454 \text{ nm}$ . La concentration en  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$  est de  $10^{-5} \text{ M}$

Au-delà de 400 nm, le spectre d'absorption du  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$  est maximum lorsque la longueur d'onde du faisceau laser incident est de 454 nm. Cette longueur d'onde est caractéristique d'un transfert de charge du métal vers le ligand (MLCT) pour ce complexe métallique.<sup>61</sup> Cette transition est à l'origine d'un phénomène de luminescence dont l'émission maximum se situe à une longueur d'onde de 610 nm (cf Figure II. 22). Les études de l'émission de luminescence sont donc réalisées en utilisant une longueur d'onde d'excitation de 454 nm et l'intensité de luminescence à 610 nm servira de point de comparaison lors des différentes études.

L'étude des propriétés spectroscopiques du  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$  commercial possédant deux contre-ions hexafluorophosphate ( $\text{PF}_6^-$ ) dans trois solvants différents nous a permis de mettre en évidence que la luminescence du complexe métallique est affectée par la polarité de son environnement (cf Figure II. 23). En effet lorsque la polarité diminue, on observe une diminution de la longueur d'onde du maximum d'émission qui passe de 610 nm (dans l'eau et dans l'acétone) à 595 nm (dans le dichlorométhane).

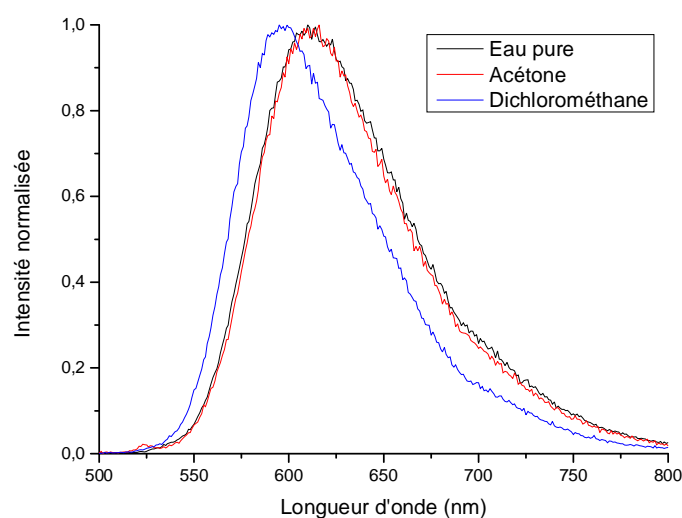


Figure II. 23 : Spectre d'émission du  $[\text{Ru}(\text{bipy})_3]^{2+}(\text{PF}_6^-)_2$  dans différents solvants. La concentration en ruthénium est de  $10^{-5} \text{ M}$ .  $\lambda_{\text{exc}} = 454 \text{ nm}$

Etant donné que nous avons choisi la température comme stimulus, l'étude de l'impact de la transition de phase sur les propriétés de photoluminescence se fera par l'enregistrement de spectres à différentes températures. Pour cela, le spectrophotomètre est équipé d'un porte cuve thermostaté qui permet la régulation de la température de l'échantillon analysé. Avant de s'intéresser aux propriétés de photoluminescence des microgels, nous avons étudié l'impact de la température sur la photoluminescence d'un complexe modèle de ruthénium, le  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$ . Les spectres d'émission sont enregistrés entre 500 nm et 800 nm et sont présentés Figure II. 24

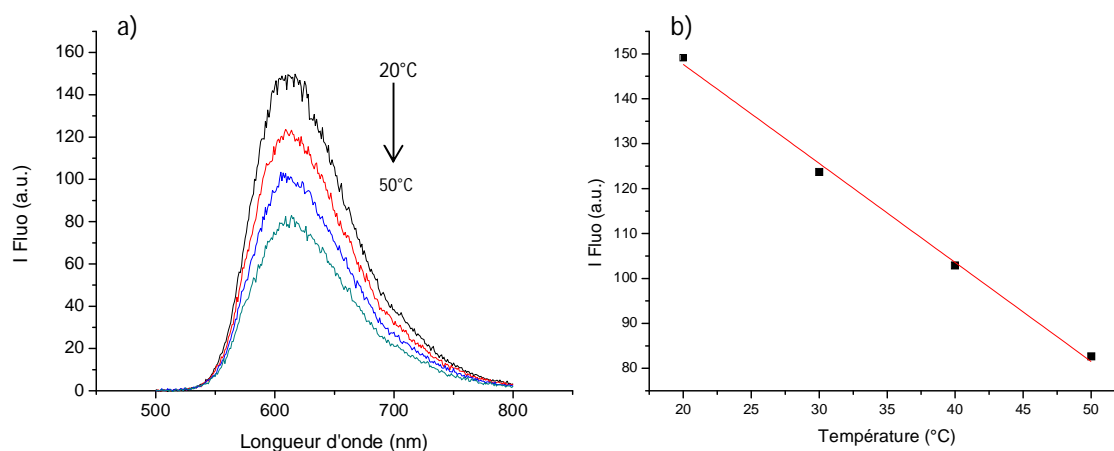


Figure II. 24 : a) Spectre de photoluminescence du  $\text{Ru(bipy)}_3^{2+}$  ( $\lambda_{exc} = 454 \text{ nm}$ ) à différentes températures. b) Evolution du maximum d'intensité ( $\lambda_{em} = 610 \text{ nm}$ ) en fonction de la température dans un tampon phosphate 20 mM pH 7,4. La concentration en  $\text{Ru(bipy)}_3^{2+}$  est de  $10^{-5} \text{ M}$ .

Une augmentation de la température entre 20 °C et 50°C provoque une diminution de l'intensité d'émission par le complexe métallique. Lorsque l'on trace l'évolution du maximum d'émission en fonction de la température, on remarque que l'intensité décroît linéairement lorsque la température augmente. Cette diminution est attribuée à l'augmentation de la probabilité de désexcitation par des processus non radiatifs lorsque la température augmente.<sup>61</sup> Ce phénomène de quenching de la luminescence par la température a déjà été rapporté par Bohen et Sahu sur différents dérivés de l'anthracène<sup>62</sup> et par Gonzales-Valesco avec le  $\text{Ru(bipy)}_3^{2+}$  en solution dans l'acétonitrile.<sup>63</sup>

### III.3.2. Photoluminescence des microgels copolymérisés avec le $\text{mRu(bipy)}_3^{2+}$

La même étude est alors réalisée sur une solution contenant les microgels NiRu15 dont les résultats sont présentés Figure II. 25.

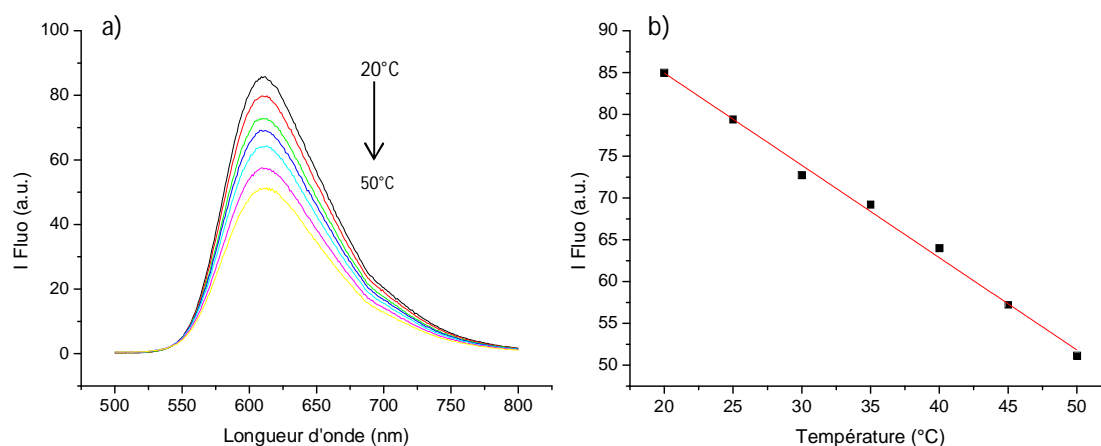


Figure II. 25 : a) Spectre de photoluminescence des microgels NiRu15 ( $\lambda_{exc} = 454$  nm) à différentes températures. b) Evolution du maximum d'intensité ( $\lambda_{em} = 610$  nm) en fonction de la température dans un tampon phosphate 20 mM pH 7,4. La concentration en ruthénium est de  $3,7 \times 10^{-5}$  M.

On remarque que le spectre enregistré à 20 °C avec l'échantillon de microgels est identique à celui du complexe de ruthénium étudié précédemment. La matrice polymère n'a donc pas d'effet majeur sur les propriétés de photoluminescence du complexe de ruthénium dans l'état gonflé. L'évolution du maximum d'émission décroît linéairement comme observé précédemment. Le changement de polarité à l'intérieur du microgel qui a lieu lors de la contraction, n'entraîne pas de décalage de la longueur d'onde du maximum d'émission, ni de modification de l'intensité de luminescence, contrairement à ce qui a été observé par l'équipe de Iwai avec différents benzofurazanes.<sup>60,64,65</sup> Ces deux observations permettent alors de conclure que la transition de phase des microgels n'affecte pas les propriétés de photoluminescence.

Les propriétés de photoluminescence ne permettent donc pas d'obtenir des informations sur l'état de gonflement des microgels. Le mécanisme de génération de luminescence par voie électrochimique étant complètement différent de celui de la photoluminescence, nous allons donc poursuivre nos travaux par l'étude des propriétés électrochimiques et d'ECL des microgels.



### III.4. Propriétés électrochimiques et d'ECL

#### III.4.1. Propriétés électrochimiques

Dans un premier temps, les propriétés électrochimiques des microgels sont étudiées afin d'obtenir des informations sur les réactions d'oxydoréduction qui peuvent se produire. Nous souhaitons tout d'abord vérifier si les complexes de ruthénium peuvent réagir à la surface de l'électrode malgré le fait qu'ils soient dans une matrice polymère. Pour cela, les microgels sont analysés par voltampérométrie différentielle à impulsion (DPV). Les résultats des analyses des deux échantillons préparés et d'un échantillon de microgels qui ne contient pas de ruthénium sont présentés Figure II. 26.

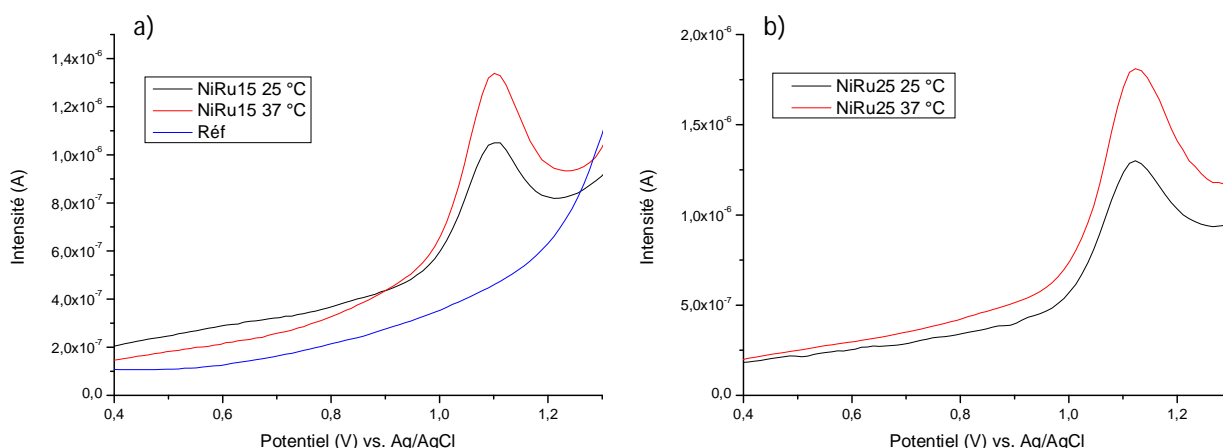


Figure II. 26 : a) Voltampérométrie différentielle à impulsion des microgels NiRu15 à 25°C (—) et à 37°C (—), et des microgels « Réf » (—) qui ne contiennent pas de ruthénium. La concentration en ruthénium de l'échantillon NiRu15 est de  $2,7 \times 10^{-4}$  M. b) Voltampérométrie différentielle à impulsion des microgels NiRu25 à 25°C (—) et à 37°C (—). La concentration en ruthénium est de  $5 \times 10^{-4}$  M. Les mesures sont réalisées avec une électrode de travail en carbone vitreux dans un tampon phosphate 20 mM pH 7,4.

Les analyses des échantillons contenant du ruthénium mettent toutes en évidence un pic bien défini centré à 1,14 V quel que soit l'état de gonflement du microgel. En revanche, ce pic n'apparaît pas avec l'échantillon dépourvu de ruthénium, prouvant ainsi d'une part que la matrice polymère n'est pas électroactive dans le domaine de potentiel étudié, et d'autre part que le pic observé est dû à l'oxydation du complexe de ruthénium. De plus, le potentiel d'oxydation

observé est identique à celui du complexe de  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$  en solution. Il en résulte que les complexes métalliques, ou du moins une partie d'entre eux, sont électrochimiquement accessibles. Ce phénomène a également été constaté par l'équipe de Prodi lors d'expériences d'ECL avec des nanoparticules de silice contenant des complexes de ruthénium.<sup>66</sup>

Les macromolécules qui contiennent des groupements électrochimiquement actifs, tels que les dendrimères, ont la particularité de s'adsorber à la surface de l'électrode.<sup>67</sup> Nous avons alors vérifié si les microgels s'adsorbent également en réalisant une mesure de voltampérométrie différentielle à impulsion dans une solution de microgels, puis après rinçage de l'électrode, une nouvelle mesure est réalisée dans une solution de tampon phosphate. Lors de la deuxième analyse, le pic d'oxydation est toujours présent, mais l'intensité du pic observé est beaucoup plus faible (28% du pic initial). Une partie des microgels reste donc adsorbée à la surface de l'électrode. Les propriétés électrochimiques sont donc gouvernées majoritairement par les phénomènes de diffusion mais également en partie par les phénomènes d'adsorption.

Bien que la température n'ait pas d'influence sur le potentiel d'oxydation du ruthénium, la différence de courant mesurée augmente avec la température. Pour chaque échantillon préparé, les hauteurs de pic sont alors mesurées aux deux températures. Les résultats sont présentés dans le Tableau II. 2.

Tableau II. 2 : Récapitulatif des coefficients de diffusion des microgels et des hauteurs de pic mesurés par intégration de la DPV.

Echantillon	Coefficient de diffusion dans l'état gonflé ( $\text{m}^2/\text{s}$ )	Coefficient de diffusion dans l'état contracté ( $\text{m}^2/\text{s}$ )	Hauteur de pic dans l'état gonflé ( $\mu\text{A}$ )	Hauteur de pic dans l'état contracté ( $\mu\text{A}$ )	$\frac{n_{\text{gonflé}}^{\text{Ru}}}{n_{\text{contracté}}^{\text{Ru}}}$
NiRu15	$3,4 \cdot 10^{-12}$ <sup>a</sup>	$6,1 \cdot 10^{-12}$ <sup>b</sup>	0,41 <sup>a</sup>	0,68 <sup>b</sup>	0,81
NiRu25	$2,9 \cdot 10^{-12}$ <sup>a</sup>	$4,6 \cdot 10^{-12}$ <sup>b</sup>	0,68 <sup>a</sup>	0,95 <sup>b</sup>	0,91
NNRu25	$2,7 \cdot 10^{-12}$ <sup>c</sup>	$3,8 \cdot 10^{-12}$ <sup>d</sup>	0,77 <sup>c</sup>	1,00 <sup>d</sup>	0,93

<sup>a</sup> : T = 25 °C ; <sup>b</sup> : T = 37 °C ; <sup>c</sup> : T = 15 °C ; <sup>d</sup> : T = 25 °C

Bien qu'un phénomène d'absorption ait été mis en évidence précédemment, dans le but d'exploiter les hauteurs de pic, nous considérons en première approximation que la diffusion des microgels vers la surface de l'électrode est le phénomène qui gouverne la réponse électrochimique. Grâce à cette hypothèse nous pouvons alors considérer que le courant est proportionnel à la racine carrée du coefficient de diffusion des particules ( $D$ ), et à la concentration de ruthénium électroactif ( $C^{Ru}$ ).<sup>68,69</sup> Cette dernière dépend de la concentration de microgels en solution et du nombre de sites électroactifs dans chaque particule de polymère ( $n^{Ru}$ ). Etant donné que le nombre de particules ne varie pas avec la température, la seule variable possible est le nombre de ruthéniums électroactifs. Le rapport des hauteurs de pic mesuré dans l'état gonflé et dans l'état contracté peut alors s'écrire de la manière suivante :

$$\frac{i_{25^\circ C}}{i_{37^\circ C}} = \sqrt{\frac{D_{25^\circ C}}{D_{37^\circ C}}} * \frac{C_{25^\circ C}^{Ru}}{C_{37^\circ C}^{Ru}} = \sqrt{\frac{D_{25^\circ C}}{D_{37^\circ C}}} * \frac{n_{25^\circ C}^{Ru}}{n_{37^\circ C}^{Ru}} = \sqrt{\frac{T_{25^\circ C}}{T_{37^\circ C}}} * \frac{d_{37^\circ C}}{d_{25^\circ C}} * \frac{n_{25^\circ C}^{Ru}}{n_{37^\circ C}^{Ru}} \quad (9)$$

La relation de Stokes-Einstein (équation (8)) permet alors d'exprimer le rapport des intensités en fonction de la température ( $T$ ) et du diamètre des particules, car le coefficient de diffusion est proportionnel à la température et inversement proportionnel au diamètre des microgels. A partir de l'équation 9, nous pouvons alors calculer le rapport du nombre de complexes de ruthéniums électroactifs dans l'état gonflé et contracté pour les deux échantillons considérés. Les valeurs calculées sont alors 0,8 pour l'échantillon NiRu15, 0,91 pour le NiRu25 et 0,93 pour le NNRu25. Ces valeurs semblent alors indiquer que, quel que soit l'état de gonflement des microgels, le nombre d'atomes de ruthénium pouvant être oxydés à la surface de l'électrode est identique. L'analyse par ICP-AES, dont les résultats sont présentés dans la partie II.1.3 montre que les microgels NiRu25 contiennent 3,3 fois plus de ruthénium que les microgels NiRu15. Cette différence de concentration est également identifiable sur les analyses de DPV, puisque les hauteurs de pic sont beaucoup plus grandes avec l'échantillon contenant le plus de ruthénium. De la même manière que précédemment, il est possible d'évaluer le rapport du nombre de ruthénium électroactif entre les deux échantillons, à une température donnée, en utilisant l'équation 9. A 25°C, lorsque les particules sont gonflées, le rapport calculé est de 3,3, ce qui est en parfait accord avec le dosage par ICP-AES. De plus, on obtient exactement le même ratio avec les valeurs mesurées à 37°C. Cette analyse permet donc de conclure sur le fait que non seulement un plus grand nombre de ruthénium par microgel est électrochimiquement actif, mais également que

les intensités mesurées sont directement proportionnelles à la concentration en ruthénium incorporée dans les microgels.

### III.4.2. Propriétés d'ECL

Après avoir vérifié que les complexes de ruthénium peuvent réagir à l'électrode et que la quantité de ruthénium électroactive est constante quel que soit l'état de gonflement des microgels, nous allons étudier les propriétés d'ECL des différents échantillons de microgels préparés.

#### III.4.2.1. Etude des microgels à base de NIPAM

Les évolutions du courant faradique et du signal ECL en fonction du potentiel pour l'échantillon NiRu15 en présence de 10 mM de TPrA (co-réactif) sont présentées Figure II. 27.

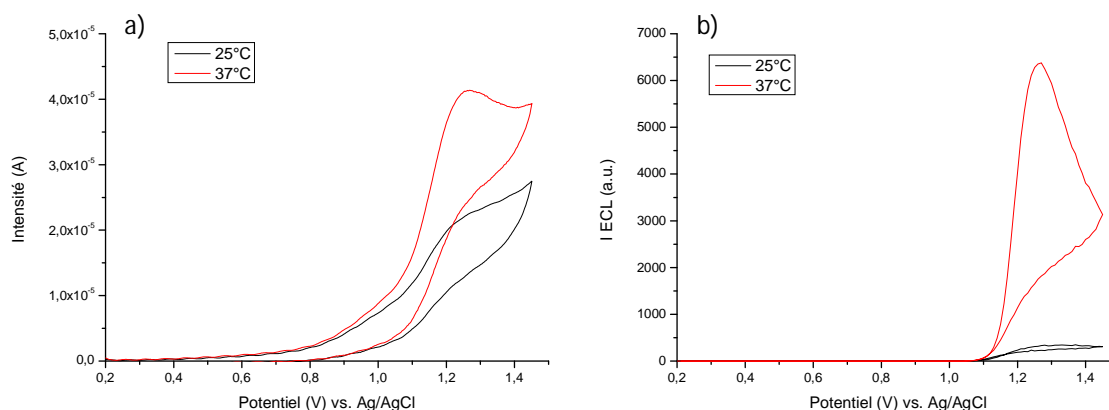


Figure II. 27 : a) voltampérométrie cyclique et b) signal ECL des microgels NiRu15 dans l'état gonflé à 25°C (—) et dans l'état contracté à 37°C (—). La concentration en ruthénium est de  $3,7 \times 10^{-5}$  M. Les mesures sont réalisées avec une électrode en carbone vitreux dans un tampon phosphate 20 mM pH 7,4 et 10 mM de TPrA.

Les analyses sont réalisées à 25°C et 37°C, car pour ces températures les microgels ont des taux de gonflement différents. Ainsi nous pouvons apprécier si la contraction a un effet sur les propriétés d'ECL. L'évolution du courant en fonction du potentiel montre la présence d'une première vague anodique débutant à 0,8 V attribuée à l'oxydation de la TPrA.<sup>38</sup> On remarque également la présence d'une deuxième vague à 1,2 V qui correspond majoritairement à

l'oxydation électrocatalytique de la TPrA par les complexes de  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{3+}$  selon le mécanisme 4 décrit dans la partie I.3.2.<sup>38,39</sup> Lorsque la même analyse est réalisée à 37 °C, l'intensité correspondant à l'oxydation de la TPrA reste quasi-stable. Cependant la vague d'oxydation à 1,2 V augmente d'un facteur environ 1,7 comme dans le cas des expériences de voltampérométrie différentielle à impulsion. La voltampérométrie cyclique permet alors de mettre en évidence que le co-réactif et le luminophore réagissent tous deux à la surface de l'électrode comme dans les mécanismes 2 et 3 de la section I.3.2. Ainsi le mécanisme 1 où seule la TPrA s'oxyde à l'électrode ne semble pas contribuer à l'émission de la luminescence. Cette hypothèse est confirmée par l'évolution du signal ECL en fonction du potentiel. En effet, l'absence de signal ECL avant 1,1 V (potentiel d'oxydation du complexe de ruthénium) suggère que les radicaux formés lors de l'oxydation de la TPrA ne diffusent pas et ne réagissent pas directement avec les complexes métalliques pour générer l'état excité, contrairement aux travaux rapportés par l'équipe de Bard avec du  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$  en solution.<sup>40,43</sup> Lorsque la température est augmentée à 37 °C, l'ECL apparaît pour la même valeur de potentiel que précédemment, mais le signal est beaucoup plus intense. Cette observation va à l'encontre de l'hypothèse formulée selon laquelle le signal ECL diminuerait lorsque les microgels se contractent en bloquant la diffusion du co-réactif. En effet, dans l'état contracté, la porosité des microgels diminue, et la diffusion d'espèces dans le réseau est plus difficile. Les travaux de Zhang et *al* ont permis de mettre en évidence que la diffusion d'espèces redox diminue de 2 ordres de grandeur à travers un réseau d'hydrogel contracté.<sup>70</sup> Nous nous attendions à ce que le co-réactif ne puisse réagir qu'avec les complexes de ruthénium situés à la surface des microgels contractés provoquant une diminution du signal ECL. Au contraire, les résultats expérimentaux indiquent que la contraction des microgels provoque une exaltation du signal ECL.

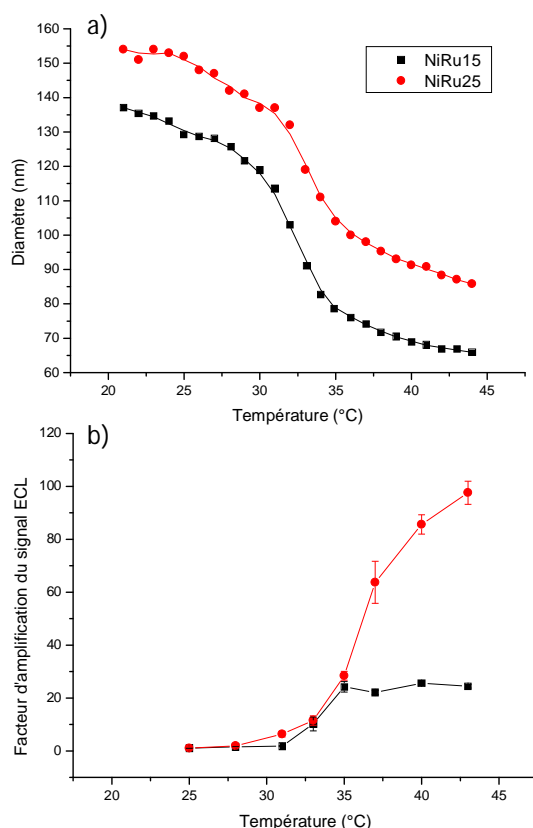


Figure II. 28 : Evolution en fonction de la température a) du diamètre hydrodynamique et b) du facteur d'exaltation du signal ECL des microgels NiRu15 (■) et NiRu25 (●) dans une solution tampon phosphate 20 mM pH 7,4 et 10 mM de TPrA. L'ECL est mesurée lors d'expériences de voltampérométrie cyclique sur une électrode de carbone vitreux. La concentration en ruthénium est de  $3,7 \times 10^{-5}$  M dans les différents échantillons.

Une étude plus précise sur le domaine de température est alors effectuée afin d'étudier l'évolution de cette exaltation. La Figure II. 28 présente l'effet de la température sur le diamètre des microgels, mais aussi sur le facteur d'exaltation du signal ECL défini comme le rapport de la valeur du signal ECL à la température considérée sur la valeur du signal à 25 °C. On remarque alors que la transition de phase a un gros impact sur la valeur de l'ECL enregistrée avec l'échantillon NiRu15. Le signal ECL est constant avant et après la transition de phase des microgels, mais augmente d'un facteur 24 entre 31 °C et 35 °C lorsque les microgels se contractent. Ce facteur d'exaltation est bien plus important que l'augmentation du courant observé lors de la voltampérométrie cyclique avec la température (cf Figure II. 27). Ce facteur d'exaltation est alors comparé à celui obtenu avec du  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$  en solution en présence de TPrA, considéré comme une référence pour notre système. Les résultats présentés Figure II. 29

montrent également une augmentation du signal ECL avec la température, mais le facteur d'exaltation n'est que de 1,6 entre 31 °C et 35 °C, ce qui est beaucoup plus faible que dans le cas des microgels NiRu15.

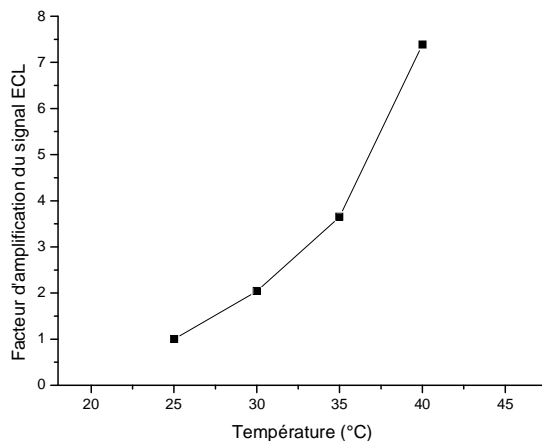


Figure II. 29 : Evolution en fonction de la température du facteur d'amplification du signal ECL de  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$  dans une solution tampon phosphate 20 mM pH 7,4 et 10 mM de TPrA. L'ECL est mesurée lors d'expériences de voltampérométrie cyclique sur une électrode de carbone vitreux. La concentration en ruthénium est de  $5 \times 10^{-5}$  M.

L'influence de la quantité de complexe de ruthénium liée de manière covalente à la matrice polymère a également fait l'objet d'investigations (cf Figure II. 28 échantillon NiRu25). Pour cet échantillon, l'évolution de la taille est similaire à celui contenant moins de complexes de ruthénium, cependant le facteur d'exaltation du signal ECL est beaucoup plus important. En effet, le facteur d'exaltation du signal ECL peut atteindre jusqu'à deux ordres de grandeur après la transition de phase des microgels. La valeur remarquable de l'exaltation observée est directement liée à l'augmentation de la concentration de complexe métallique par particule.

La réversibilité du système a également été testée sur les microgels NiRu15. Cette expérience consiste à fixer la température à 25 °C dans un premier temps puis de mesurer le signal ECL. Par la suite, on reproduit la même mesure mais à une température au-dessus de la transition de phase, soit 40 °C. Au final, on répète une nouvelle fois l'expérience à 25 °C. Si la valeur du signal ECL est la même que celle obtenue lors de la première mesure à 25 °C, on

pourra alors affirmer que le signal est réversible. Les résultats du test de réversibilité sur l'échantillon NiRu15 pour plusieurs cycles de température sont présentés Figure II. 30.

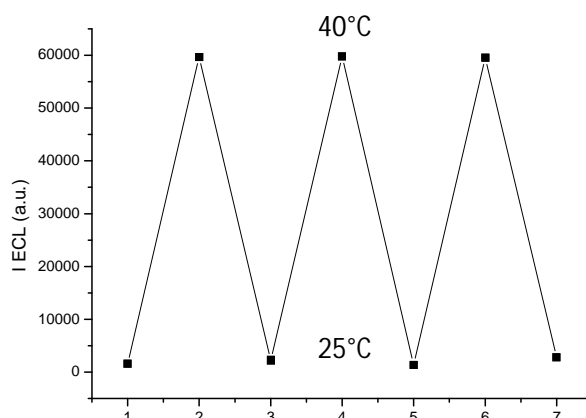


Figure II. 30 : Réversibilité du signal ECL lors de variation de température périodique entre 25°C et 40°C de l'échantillon NiRu15 dans un tampon phosphate 20 mM pH 7,4 et 10 mM de TPrA.

Les résultats obtenus prouvent que l'exaltation du signal ECL provoquée par la contraction des microgels est réversible, car, lorsque ces derniers regonflent, on retrouve la même valeur initiale. De plus, les valeurs des signaux restent constantes même après plusieurs cycles de température.

L'étude des propriétés électrochimiques et des propriétés d'ECL a permis de mettre en évidence une exaltation réversible du signal ECL lorsque les microgels se contractent. Cette exaltation n'est pas provoquée par une augmentation du nombre de ruthénium actif (cf analyse en DPV). L'étude du système de référence a également montré une augmentation du signal d'ECL avec la température qui reste nettement plus faible que celle observée avec les microgels. L'effet de la température sur le système de référence ne permet pas d'expliquer les propriétés d'ECL de nos microgels luminescents. Avant de réaliser de nouvelles expériences qui permettent de nous éclairer sur le mécanisme responsable de cette exaltation, nous souhaitons vérifier que l'exaltation est bel et bien corrélée à la transition de phase.



### III.4.2.2. Etude de microgels luminescents avec différentes températures de transition de phase

Le but de cette partie est d'étudier des microgels dont la température de transition de phase est différente de celle des microgels uniquement constitués de NIPAM. De cette manière nous allons donc pouvoir vérifier si l'exaltation du signal ECL est corrélée à la VPTT des microgels. Les résultats obtenus avec le NNRu25 et le NiMRu15 sont présentés et comparés à ceux obtenus avec le NiRu15 sur la Figure II. 31.

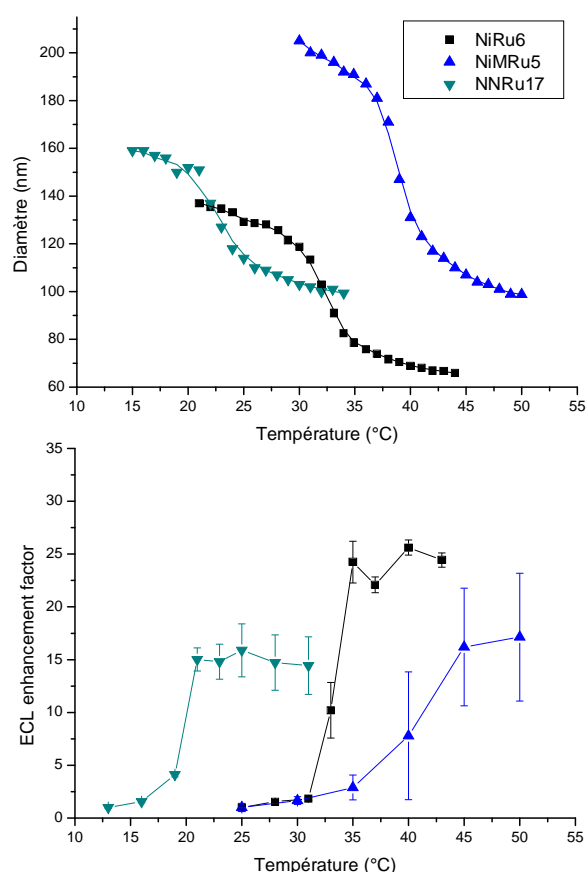


Figure II. 31 : Evolution en fonction de la température a) du diamètre hydrodynamique et b) du facteur d'amplification du signal ECL des microgels NiRu15 (■), NiMRu15 (▲) et NNRu25 (▼) dans une solution tampon phosphate 20 mM pH 7,4 et 10 mM de TPrA. L'ECL est mesurée lors d'expériences de voltampérométrie cyclique sur une électrode de carbone vitreux. La concentration en ruthénium est de  $3,7 \times 10^{-5}$  M dans les différents échantillons.

Le facteur d'amplification des nouveaux échantillons est alors défini comme le rapport de l'intensité du signal ECL à la température considérée sur le signal ECL à la température dans l'état gonflé. On observe alors que pour chaque échantillon, le phénomène d'exaltation a lieu lorsque les microgels se contractent. On constate également qu'avant et après la transition de phase, les signaux ECL sont constants et évoluent peu ou pas du tout avec la température. Les facteurs d'exaltation observés sont respectivement de 16 pour le NNRu25 et 17 pour le NiMRu15. Ces valeurs sont proches de celles obtenues avec le NiRu15, bien que nous aurions pu nous attendre à une valeur plus importante pour l'échantillon NNRu25 compte tenu de sa teneur en ruthénium. Bien que sa teneur soit supérieure, la valeur absolue des signaux obtenus est plus proche de celle mesurée avec l'échantillon NiRu15 que de celle de l'échantillon NiRu25.

La modification de la structure du monomère thermosensible qui constitue en majorité la matrice polymère, nous a permis de changer la température de transition des microgels. L'étude des propriétés ECL sur ces différents échantillons a révélé que la contraction et le phénomène d'exaltation se produisent systématiquement sur le même domaine de température. Nous pouvons donc en conclure que les deux phénomènes sont corrélés. Il est donc possible de connaître l'état de gonflement de nos microgels en sondant les propriétés ECL. Dans le but d'essayer de comprendre les phénomènes qui provoquent l'exaltation du signal ECL, la prochaine partie sera consacrée à l'étude des propriétés d'ECL en utilisant différents co-réactifs.

### III.4.2.3. Influence de la nature du co-réactif

Le but de cette partie est d'étudier les signaux ECL avant et après la transition de phase en utilisant des co-réactifs ayant des mécanismes de génération de l'ECL ou des propriétés différentes. Pour cela nous avons sélectionné deux co-réactifs la DBAE et l'oxalate dont les structures sont présentées Figure II. 32.

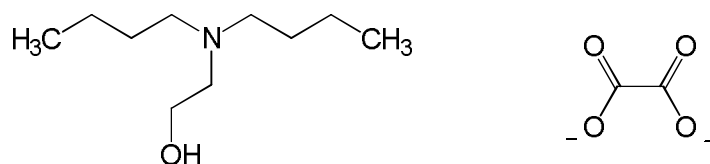


Figure II. 32 : Structure chimique de la DBAE et des ions oxalates.

Lors de la contraction des microgels, l'eau est expulsée de la matrice polymère, car les interactions polymère-polymère sont plus favorables que les interactions polymère-solvant. Par conséquent l'hydrophobicité du réseau augmente, ce qui peut entraîner une meilleure affinité entre la matrice polymère contenant le ruthénium et les radicaux issus de l'oxydation de la TPrA. Si cette augmentation d'hydrophobicité permet une meilleure diffusion de la TPrA dans les microgels, nous devrions alors observer un changement de comportement en utilisant un co-réactif moins hydrophobe. C'est pour cette raison que nous avons choisi de travailler avec le DBAE. Ce co-réactif est également une amine tertiaire, dont le mécanisme de génération de l'ECL est similaire à celui de la TPrA. Le comportement avec ce co-réactif est alors étudié avant et après la transition de phase des microgels NiRu6. Les résultats sont présentés Figure II. 33.

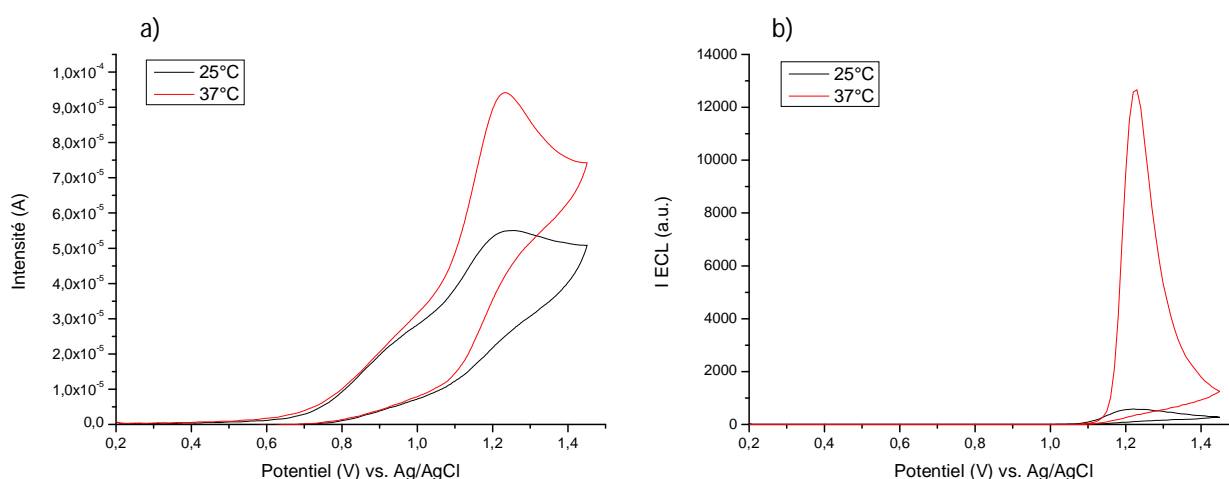


Figure II. 33 : a) voltampérométrie cyclique et b) signal ECL des microgels NiRu15 dans l'état gonflé à 25°C (—) et dans l'état contracté à 37°C (—). La concentration en ruthénium est de  $3,7 \times 10^{-5}$  M. Les mesures sont réalisées avec une électrode en carbone vitreux dans un tampon phosphate 20 mM pH 7,4 et 10 mM de DBAE.

L'évolution du courant lors des expériences de voltampérométrie cyclique est identique à celle observée avec la TPrA. Nous observons bien la présence des deux vagues d'oxydation correspondant à l'oxydation de la DBAE (0,8 V) et celle de l'oxydation électrocatalytique de la DBAE par les  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{3+}$ . De plus, la température a le même effet sur chacune des vagues, à savoir un courant identique pour la première et une augmentation d'un facteur 1,7 pour la deuxième. Le comportement électrochimique est donc identique à celui observé avec la TPrA. En

ce qui concerne les propriétés ECL, on retrouve également les mêmes caractéristiques. Il n'y a pas de luminescence avant le potentiel d'oxydation de Ruthénium, et la contraction du microgel provoque l'exaltation du signal d'un facteur 22. On remarque cependant que la valeur absolue du signal est plus élevée avec la DBAE, ce qui a déjà été observé par l'équipe de Xu.<sup>45</sup> Ces expériences mettent alors en évidence qu'il n'y a pas de lien entre l'hydrophobicité du co-réactif et le phénomène d'exaltation.

Nous avons alors choisi d'utiliser les ions oxalate comme co-réactif, car leur structure et le mécanisme de génération de l'ECL sont différents de ceux employés précédemment. Le protocole expérimental reste inchangé, seul le co-réactif est remplacé en prenant soin de garder la même concentration.

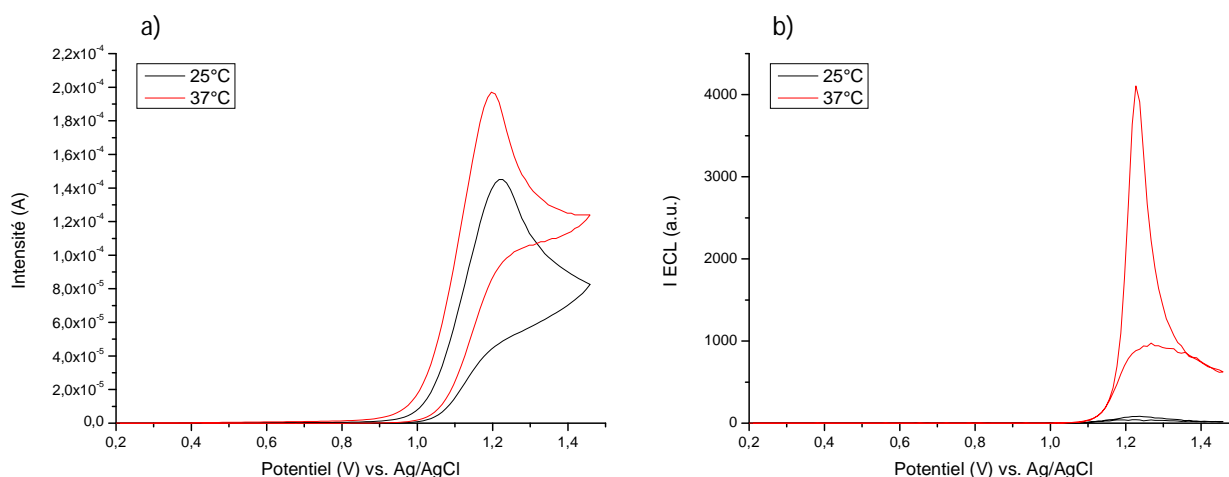


Figure II. 34 : a) voltampérométrie cyclique et b) signal ECL des microgels NiRu15 dans l'état gonflé à 25°C (—) et dans l'état contracté à 37°C (—). La concentration en ruthénium est de  $3,7 \times 10^{-5}$  M. Les mesures sont réalisées avec une électrode en carbone vitreux dans un tampon phosphate 20 mM pH 7,4 et 10 mM d'oxalate de sodium.

Dans ces expériences l'évolution du courant faradique est différente (cf Figure II. 34). La vague d'oxydation du co-réactif à 0,8 V est absente, car les ions oxalates ne sont pas directement oxydés à l'électrode en solution aqueuse, comme nous l'avons déjà mentionné précédemment dans la partie I.3.1. On observe uniquement l'oxydation électrocatalytique à 1,2 V. Les propriétés ECL sont elles aussi légèrement différentes. Bien que la luminescence apparaisse toujours au

même potentiel, le facteur d'exaltation quant à lui est deux fois plus grand que celui obtenu avec les amines tertiaires. On calcule une valeur de 48 avec les oxalates alors qu'il était de 22 avec le DBAE et 24 avec la TPrA. La théorie selon laquelle l'exaltation serait provoquée par une meilleure affinité entre la matrice polymère, plus hydrophobe après contraction, et le co-réactif hydrophobe est une nouvelle fois remise en question. En effet dans ce cas, bien que les ions oxalates soient hydrophiles, l'exaltation est plus grande. Contrairement aux amines tertiaires, les oxalates sont chargés négativement, et après oxydation ils forment des radicaux également chargés négativement. Des interactions électrostatiques peuvent donc avoir lieu entre les complexes de ruthénium et les oxalates ou les radicaux produits, favorisant ainsi leur diffusion dans les microgels. En comparant les valeurs absolues des signaux, on remarque que l'ECL générée avec ce co-réactif est plus faible qu'avec les amines tertiaires, ce qui reste cohérent avec les résultats de la littérature.

L'utilisation de différents co-réactifs a permis de mettre en évidence que le changement d'hydrophobicité du co-réactif ne permet pas de moduler le facteur d'exaltation du signal ECL. En revanche, une modification des propriétés d'ECL est observée avec les ions oxalates. Cependant nous ne pouvons pas conclure sur l'origine de cette différence, ni sur les raisons pour lesquelles le signal d'ECL est exalté.

### **III.5. Discussion**

L'étude réalisée jusqu'à présent nous a permis de mettre en évidence l'exaltation du signal ECL lorsque les microgels sont dans l'état contracté. De plus, nous avons prouvé que cette modification des propriétés d'ECL intervient sur le même domaine de température que la transition de phase des microgels. Dans cette partie, nous allons discuter des différents phénomènes qui peuvent être à l'origine de cette exaltation.

Le phénomène d'exaltation du signal ECL n'est pas lié au rendement quantique du complexe de ruthénium. En effet, les expériences de photoluminescence montrent que la transition de phase n'affecte pas de façon significative les propriétés d'émission. Il en résulte alors que ce phénomène est gouverné par les transferts d'électrons qui permettent au final de générer l'état excité.

L'ECL est une technique qui est très sensible à la nature de l'électrode, à la cinétique d'oxydation et à la stabilité des radicaux produits.<sup>39,40</sup> Par exemple, le signal ECL émis est plus intense lorsque la surface de l'électrode est rendue plus hydrophobe à l'aide de tensioactifs, ou de dérivés thiolés.<sup>41-44</sup> Ainsi, le changement d'hydrophobicité créé par la contraction des microgels à proximité de l'électrode de travail peut être à l'origine de l'exaltation du signal ECL observée.

La transition de phase des microgels provoque non seulement une modification de l'hydrophobicité, mais change également la distance moyenne entre deux complexes de ruthénium. En effet, lorsque la matrice polymère se contracte cette distance diminue. Dans le but de vérifier si cette distance peut être à l'origine du phénomène, nous avons tracé l'évolution du signal ECL en fonction de la distance moyenne entre les complexes métalliques (cf Figure II. 35). La distance entre les complexes a été estimée connaissant la teneur en ruthénium par particule et en faisant l'hypothèse que les complexes de ruthénium sont répartis de manière homogène dans la matrice polymère. Pour chaque échantillon, le signal ECL est normalisé, c'est-à-dire qu'il est divisé par la valeur obtenue avec le système de référence ( $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}/\text{TPrA}$ ) à la même température.

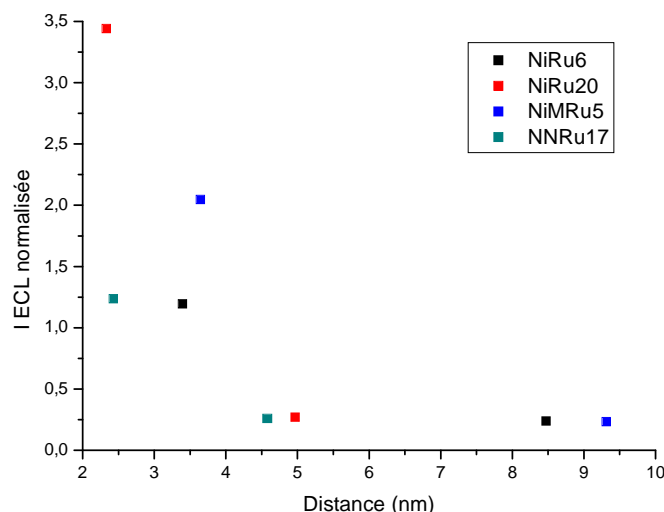


Figure II. 35 : Variation du signal ECL normalisé en fonction de la distance entre ruthénium dans l'état gonflé et dans l'état contracté des microgels. Le signal pour chaque échantillon est normalisé par l'intensité ECL de la solution de ruthénium à la même température.

On remarque alors que, lorsque la distance estimée est supérieure à 4 nm, il n'y a pas d'évolution particulière du signal ECL normalisé. En revanche, en dessous de cette valeur, le signal augmente brutalement lorsque la distance diminue. La distance entre les sites redox est un paramètre important pour les processus de transfert d'électrons dans les hydrogels. En effet, le taux de transfert d'électrons diminue de façon exponentielle avec la distance.<sup>71</sup> Les points expérimentaux semblent eux aussi suivre une loi du type exponentiel décroissant. Ces résultats suggèrent qu'un phénomène équivalent à la diffusion de charge dans des polymères redox a lieu dans nos microgels. Cette diffusion se fait par « saut d'électrons » entre une espèce oxydée et une espèce réduite lorsque la distance qui les sépare est de l'ordre de 1 à 3 nm.<sup>71</sup> Cette valeur correspond à celle calculée pour chaque échantillon de microgels dans l'état contracté où le signal est amplifié. Nous pouvons ainsi en conclure que le rapprochement des complexes de ruthénium semble avoir un rôle important dans le phénomène d'amplification du signal ECL au même titre que le changement d'hydrophobicité de la matrice polymère. Ces transferts d'électrons peuvent être impliqués dans deux processus électrochimiques qui ont lieu dans les microgels. Le premier processus a pour effet une augmentation de l'oxydation électrocatalytique du co-réactif par le  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{3+}$ . Lorsque les atomes de ruthénium sont suffisamment proches, l'électron peut être transféré d'un complexe de ruthénium à un autre, augmentant ainsi le nombre de sites où cette oxydation peut avoir lieu. Cependant, cette interprétation n'est pas en accord avec les expériences de DPV qui nous ont permis de déterminer que le même nombre d'atomes de ruthénium par particule est électroactif quel que soit l'état de gonflement. Le second processus pouvant avoir lieu, et qui est favorisé par un rapprochement des complexes, est la génération de l'état excité par la réaction d'annihilation décrite dans la partie I.3. Dans les microgels, le  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{3+}$  est produit par oxydation à l'électrode, et le  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^+$  résulte de la réaction entre le  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$  et les radicaux très réducteurs formés lors de l'oxydation des co-réactifs. Bien que le  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^+$  ne soit pas stable en solution aqueuse,<sup>34</sup> les travaux de Fiaccabrino *et al* ont permis de mettre en évidence que le temps de vie est assez long pour pouvoir réagir avec la forme  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{3+}$  après diffusion à l'échelle micrométrique.<sup>72</sup> Ainsi la diminution de la distance favorise la génération de l'état excité par annihilation, conduisant ainsi à un signal ECL plus intense. De plus, l'environnement hydrophobe dans la matrice polymère peut éventuellement

permettre d'augmenter le temps de vie de l'espèce  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^+$ , ce qui contribue également à l'obtention d'un signal ECL plus intense.

Cette étude des propriétés de luminescence lors de la transition de phase des microgels a permis de mettre en évidence une amplification du signal ECL, pouvant atteindre jusqu'à deux ordres de grandeurs, alors qu'aucun phénomène particulier n'est observé en photoluminescence. De plus, nous avons réussi à mettre en évidence que non seulement il existe une corrélation entre la transition de phase des microgels et l'amplification du signal ECL, mais aussi que ce phénomène est réversible. La distance entre les complexes de ruthénium semble être la cause principale de l'exaltation du signal, car cela permet de moduler l'oxydation électrocatalytique du co-réactif ainsi que la génération de l'état excité par annihilation. Etant donné que la distance entre les sites redox semble être le paramètre clef, cela signifie que ce concept peut être généralisé à tous les hydrogels stimulables et notamment aux microgels biostimulables. Ces microgels offrent en plus l'opportunité de développer des nanomatériaux dont la couleur du signal ECL peut être modifiée grâce au principe de transfert d'énergie entre deux fluorophores. Ce transfert d'énergie est gouverné entre autre par la distance qui les sépare.

## IV. Application à la détection des sucres

Fort des résultats précédents, nous avons cherché à développer des microgels luminescents sensibles à un stimulus autre que la température. Nous avons choisi de rendre ces microgels sensibles au glucose avec l'idée de détecter une éventuelle variation des propriétés de luminescence en fonction de la concentration en glucose. Nous espérons ainsi développer les premiers biocapteurs ECL sensibles au glucose. Des microgels sensibles au glucose ont déjà été synthétisés et étudiés au laboratoire.<sup>7</sup> Pour conférer aux microgels une sensibilité au glucose, un élément de reconnaissance de ce dernier est incorporé dans la matrice polymère par copolymérisation. Ce dernier a pour effet de diminuer la transition de phase des microgels préparés. Afin d'obtenir une sensibilité à température ambiante, nous devons utiliser un monomère précurseur de polymères thermosensibles dont la transition de phase est élevée : le NIPMAM. Les dérivés de l'acide phénylboronique sont capables de se complexer avec les sucres lorsque le pH est supérieur à leur pKa (cf Figure II. 36).



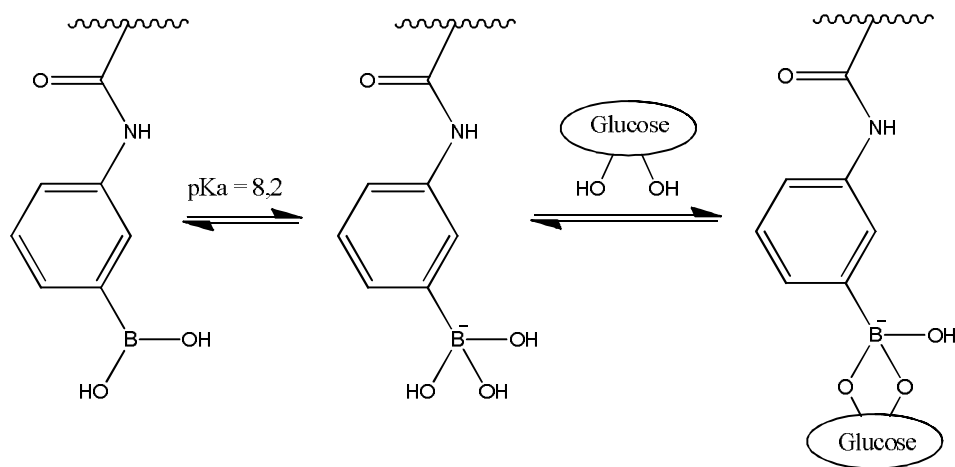


Figure II. 36 : Mécanisme de complexation du glucose par l'AAPBA.

Cependant ces récepteurs ne sont pas sélectifs du glucose car ils ont la capacité de se complexer avec d'autres diols, comme par exemple le fructose. De plus, ce dernier est généralement bien mieux complexé que le glucose, car sa constante d'association avec un acide phénylboronique est plus de 30 fois supérieure.<sup>73</sup> Les constantes d'association sont répertoriées dans le Tableau II. 3.

Tableau II. 3 : Constante d'association du glucose et du fructose avec un acide phénylboronique.<sup>73</sup>

Sucre	Constante d'association (M <sup>-1</sup> )
Glucose	4,6
Fructose	160

## IV.1. Synthèse et caractérisation de microgels luminescents sensibles aux sucres

### IV.1.1. Caractérisation des microgels

La synthèse des microgels a été réalisée selon la même procédure que celle utilisée précédemment. Une partie du NIPMAM est substituée par un co-monomère porteur de la

fonction boronique, afin de les rendre sensible au glucose. Ainsi la copolymérisation va se faire entre quatre monomères différents : le NIPMAM, le BIS, le  $\text{mRu}(\text{bipy})_3^{2+}$ , et le monomère porteur du récepteur au glucose. L'ajout d'un nouveau co-monomère dans une synthèse peut venir perturber le bon déroulement de celle-ci. Pour ces premiers travaux, nous avons donc choisi de travailler avec l'acide 3-acrylamidophenylboronique (AAPBA) (Figure II. 37) dont le pKa est de 8,2.<sup>74</sup>

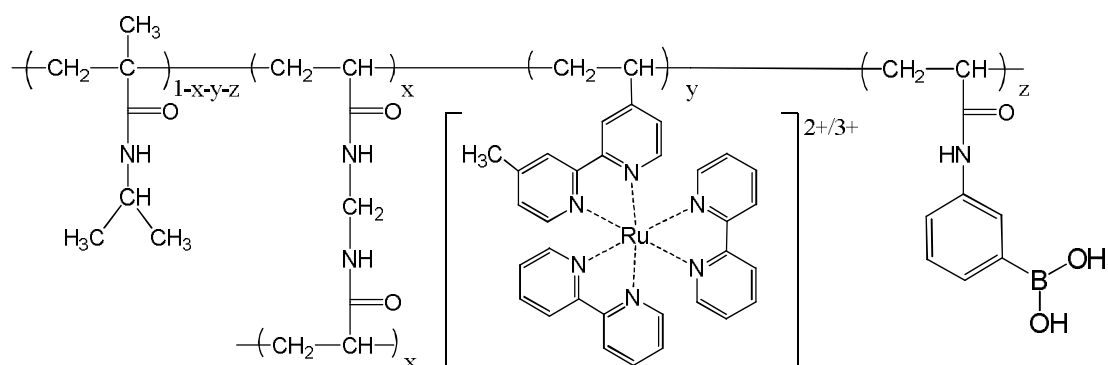


Figure II. 37 : Structure chimique des microgels luminescents sensibles au glucose.

Deux échantillons de composition différente sont préparés, l'un contenant 0,2% molaire de  $\text{mRu}(\text{bipy})_3^{2+}$  et l'autre contenant 1,5%. Les compositions des mélanges de monomères sont reportées dans le Tableau II. 4.

Tableau II. 4 : Microgels synthétisés et leurs caractéristiques

Nom	% molaire de $\text{mRu}(\text{bipy})_3^{2+}$ introduit	% molaire de $\text{mRu}(\text{bipy})_3^{2+}$ incorporé <sup>i</sup>	% molaire d'AAPBA introduit	% molaire d'AAPBA incorporé <sup>i</sup>	$d_H$ (nm) T= 10°C (PDI)	$d_H$ (nm) T= 40°C (PDI)
<b>Ru2PBA</b>	0,2	0,3	10	34*	141 (0,09)	95 (0,08)
<b>Ru15PBA</b>	1,5	0,6	10	12	85 (0,09)	63 (0,08)

<sup>i</sup> Pourcentage molaire déterminé par ICP-AES. \* Valeur aberrante

Les microgels obtenus sont relativement monodisperses, comme en témoignent les faibles valeurs de PDI et l'analyse par microscopie électronique à transmission (Figure II. 38). Les microgels ont des tailles comparables à celles des microgels obtenus sans AAPBA, voire légèrement inférieures.

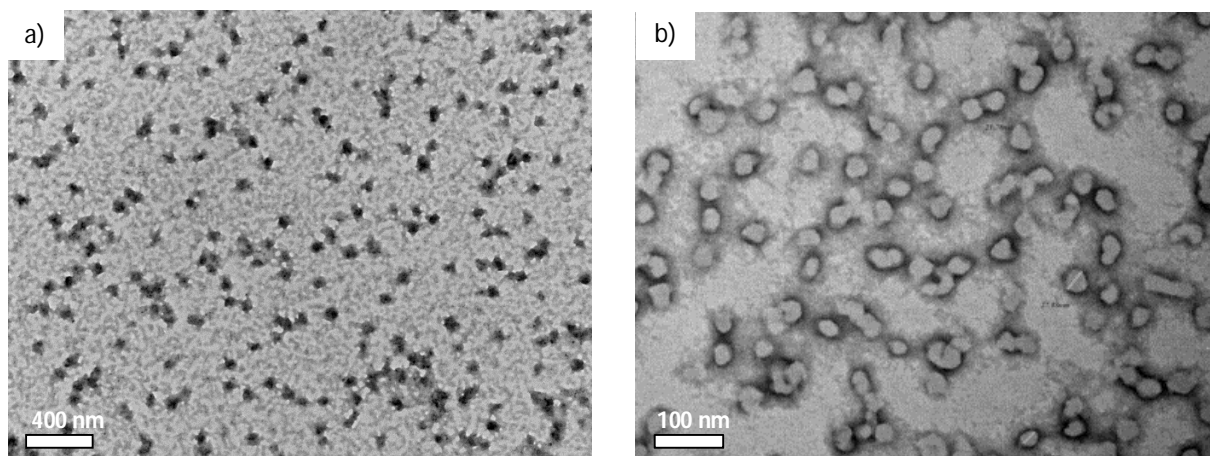


Figure II. 38 : Clichés TEM des microgels a) Ru2PBA et b) Ru15PBA

### IV.1.2. Etude de l'aspect stimuable des microgels

Nous allons à présent étudier quelle est l'influence de l'incorporation de l'AAPBA sur les propriétés de gonflement des microgels à base de NIPMAM et quelles sont les modifications provoquées par l'ajout de glucose. Pour cela, le diamètre hydrodynamique des microgels est mesuré en fonction de la température, en présence ou en absence de monosaccharide, à un pH de 8,5. Cette valeur est proche du pKa de l'AAPBA et permet d'exploiter l'équilibre d'association entre l'AAPBA et les monosaccharides. Les résultats pour les deux échantillons de microgels sont présentés sur la Figure II. 39. Les courbes présentées sont tronquées. Elles ne représentent les microgels que lorsqu'ils sont dispersés. Lorsqu'ils atteignent l'état collapsé, les microgels sont agrégés. Ce phénomène d'agrégation est lié aux conditions d'analyse choisies. L'analyse est réalisée dans un tampon à 20 mM de phosphate. A cette force ionique, les interactions électrostatiques sont écrantées, ce qui ne permet pas d'assurer la stabilité colloïdale des microgels à l'état contracté.

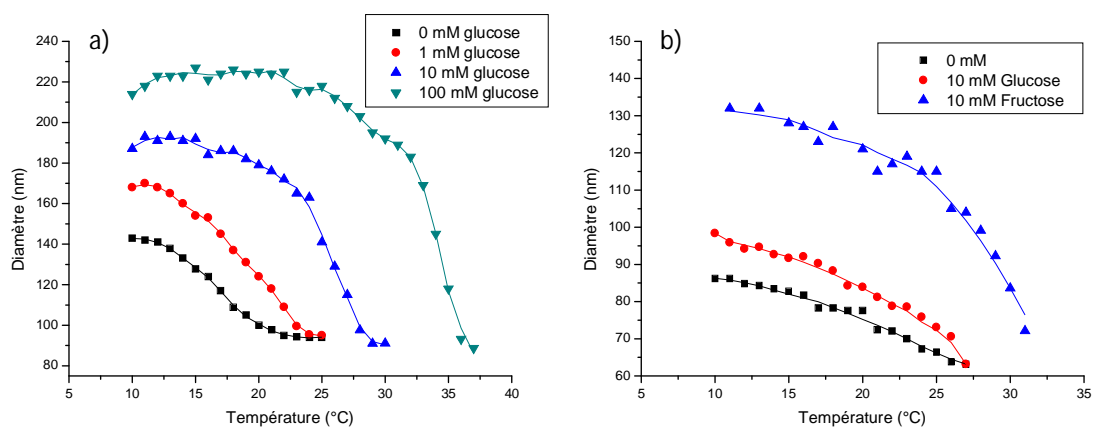


Figure II. 39 : Evolution du diamètre hydrodynamique des microgels en fonction de la température en présence de différentes concentrations en monosaccharides (glucose ou fructose) des microgels a) Ru2PBA et b) Ru15PBA dans un tampon phosphate 20 mM pH 8,5.

Pour les deux lots, en absence de saccharide, l'incorporation de l'AAPBA diminue la température de transition de phase volumique par rapport à celle d'un microgel de NIPMAM pur (45 °C). Ces résultats indiquent clairement que la présence de l'acide phénylboronique renforce le caractère hydrophobe des microgels, diminuant ainsi l'affinité des chaînes polymères pour l'eau. Ce caractère hydrophobe peut être expliqué par la présence du noyau aromatique. De même, les taux de gonflement entre l'état gonflé et contracté sont plus faibles que pour les microgels de poly(NIPMAM) non fonctionnalisés. Ce taux est défini ici comme le rapport du volume dans l'état gonflé sur le volume à l'état contracté. Pour l'échantillon de référence, ce taux vaut 18 alors qu'il n'est que de 3,5 et 2,5 pour les échantillons Ru2PBA et Ru15PBA respectivement.

L'ajout de glucose à la solution de microgels modifie leur comportement. En effet, la température de transition de phase augmente avec la concentration en glucose. Comme évoqué précédemment la complexation du glucose va favoriser la forme chargée du dérivé boronique par rapport à la forme neutre. Les boronates sont hydrophobes dans leur forme neutre, mais sont hydrophiles lorsqu'ils sont chargés négativement. La matrice polymère devient alors de plus en plus hydrophile avec l'ajout de glucose, ce qui se manifeste par l'augmentation de la température de transition de phase observée. Le même phénomène a également été observé par Katoaka et *al* sur des hydrogels macroscopiques.<sup>75</sup> Ce phénomène est clairement visible avec l'échantillon de

Ru2PBA mais beaucoup moins avec l'échantillon Ru15PBA. Ce dernier contient plus de ruthénium, donc plus de charges positives. De ce fait, le comportement est plus complexe, car le caractère polyampholyte du réseau est beaucoup plus marqué. La réponse au glucose de l'échantillon Ru15PBA étant faible, nous avons alors choisi d'étudier les propriétés de gonflement en fonction de la concentration de fructose. En présence de 10 mM de fructose, le changement de comportement est bien plus important qu'en présence de glucose (cf Figure II. 40). La meilleure complexation du fructose par rapport au glucose par les dérivés boroniques en est la cause.

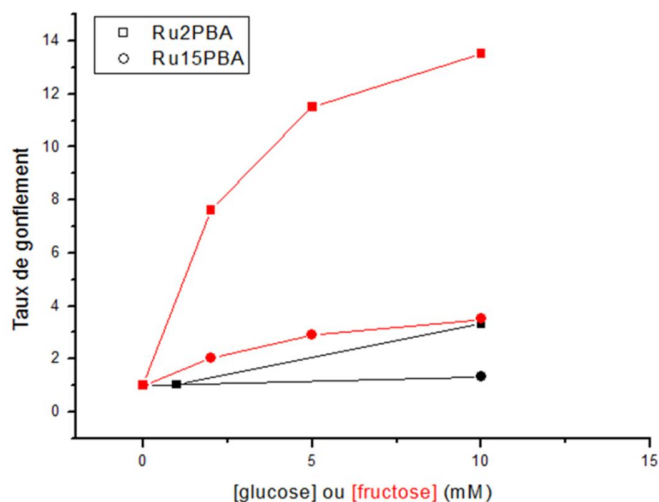


Figure II. 40 : Evolution du taux de gonflement des microgels Ru2PBA(□) et Ru15PBA (○) en fonction de la concentration en glucose (symboles noirs) ou en fructose (symboles rouges) dans un tampon phosphate 20 mM pH 8,5 à 25 °C.

Les synthèses réalisées permettent alors l'obtention de microgels sphériques et de taille homogène. Les propriétés de gonflement des microgels sont dépendantes de la concentration de glucose ou de fructose dans le milieu. Comme nous l'avons vu avec l'échantillon de Ru15PBA la réponse est bien plus importante en présence de fructose. Dans le but de maximiser les éventuels effets de la complexation sur la luminescence, nous choisissons alors de poursuivre notre étude avec le fructose.

## IV.2. Influence de la concentration en fructose sur la photoluminescence

Dans cette partie nous allons étudier les propriétés de photoluminescence lorsque les microgels sont en présence de différentes concentrations en fructose. L'analyse est réalisée dans un tampon phosphate 20 mM, utilisé par la suite pour les études électrochimiques et à pH 8,5 pour l'étude des interactions avec les sucres. Avant d'étudier l'évolution de la photoluminescence sur nos microgels, nous avons tout d'abord vérifié que la présence de fructose en solution n'altère pas les propriétés de luminescence du complexe de ruthénium. Les spectres d'émission du ruthénium en fonction de la concentration en fructose sont présentés Figure II. 41.

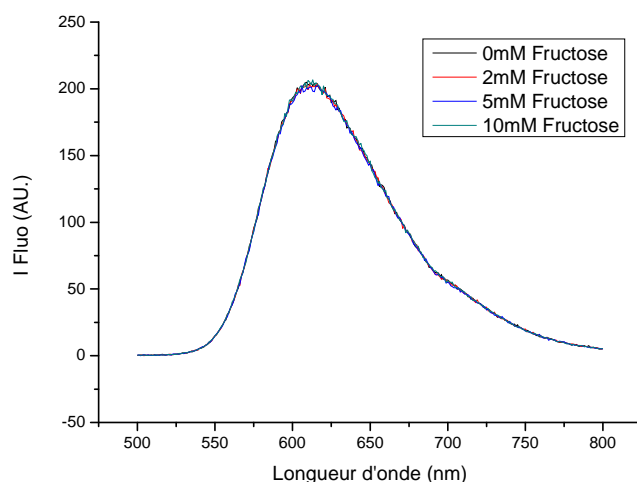


Figure II. 41 : Influence de la concentration en fructose sur la photoluminescence de  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$  dans une solution tampon 20 mM pH 8,5 à 25°C.  $\lambda_{\text{exc}} = 454 \text{ nm}$ .

Les spectres d'émission présentent un maximum à 610 nm. Ils se superposent parfaitement, quelle que soit la concentration en saccharides. Le fructose n'a donc aucun effet sur les propriétés de photoluminescence du complexe de ruthénium. La même étude est alors réalisée sur les microgels à une température de 25°C. Les spectres d'émission de chaque échantillon sont présentés Figure II. 42.

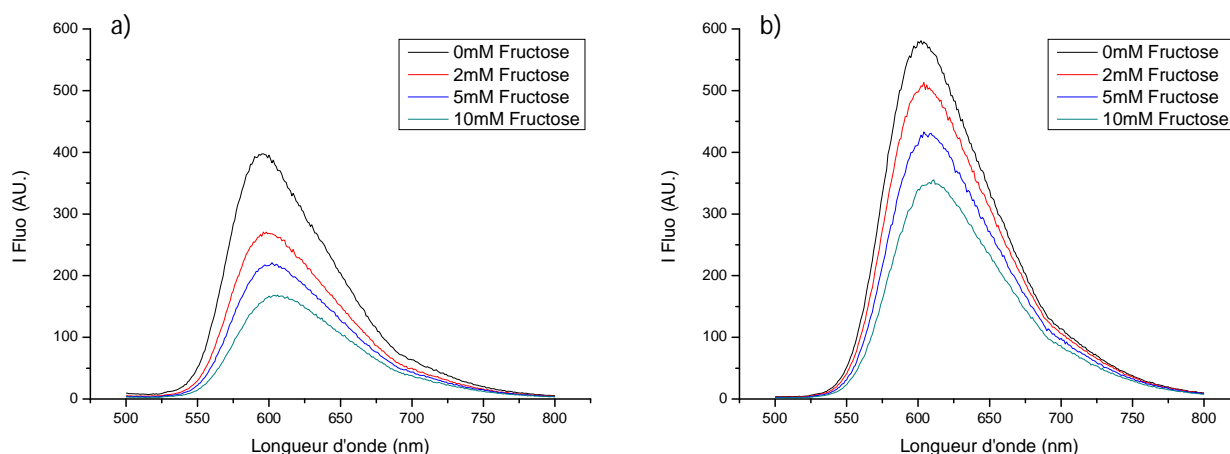


Figure II. 42 : Influence de la concentration en fructose sur la photoluminescence de a) Ru2PBA et b) Ru15PBA dans une solution tampon 20 mM pH 8,5 à 25°C. La concentration en  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$  est de  $5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ .  $\lambda_{\text{exc}} = 455 \text{ nm}$ .

Les propriétés de photoluminescence sont modifiées pour les deux échantillons étudiés. En effet, l'ajout de fructose induit non seulement une diminution du maximum d'émission, mais également un effet bathochrome (déplacement de l'émission vers les plus grandes longueurs d'onde). Ce résultat est inattendu, car l'étude précédente a permis de conclure que la transition de phase n'a pas d'impact sur la photoluminescence. La modification simultanée du maximum d'intensité et de la longueur d'onde suggère que le changement d'hydrophobicité est à l'origine de ces variations. Ce phénomène a également été observé par l'équipe de Richter lors d'expériences d'ECL. L'ajout de tensioactifs modifie de manière non négligeable l'intensité de la luminescence du complexe  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$  et provoque un décalage du pic d'émission d'environ 8 nm.<sup>42</sup> Nous pouvons donc en conclure que le changement d'hydrophobicité, qui s'opère lors de la contraction des microgels de poly(NIPAM) non substitué en réponse à la température, n'est pas suffisamment important pour impacter les propriétés de photoluminescence, contrairement à celui qui opère lors de la complexation du fructose par les dérivés boroniques. Afin de pouvoir comparer les deux échantillons entre eux, nous reportons le taux de gonflement des microgels, c'est-à-dire leur volume normalisé par le volume en absence de fructose à 25°C. Les variations du taux de gonflement, de l'intensité de photoluminescence et de la longueur d'onde du maximum d'émission en fonction de la concentration de fructose sont présentées Figure II. 43.

## Chapitre II : Microgels électrochimiluminescents pour le développement d'une nouvelle gamme de biocapteurs

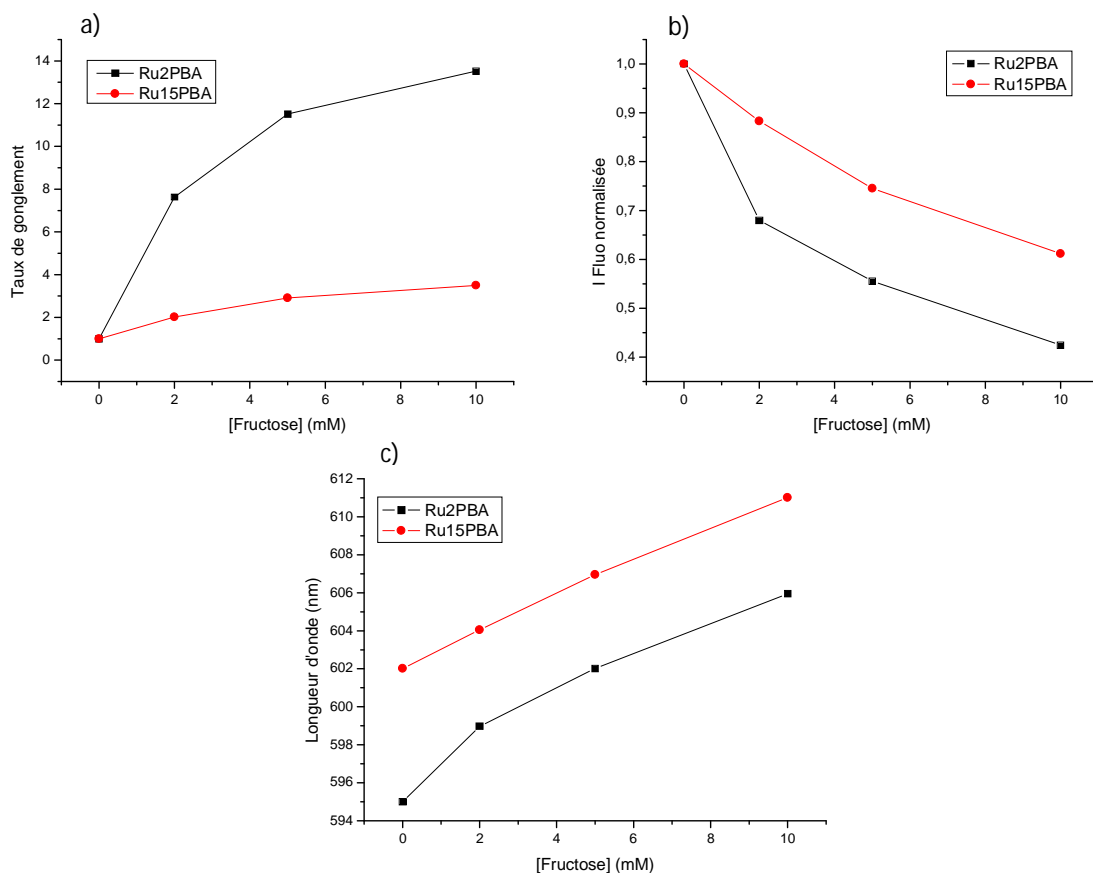


Figure II. 43 : Evolution en fonction de la concentration en fructose a) du taux de gonflement, b) de l'intensité de photoluminescence et c) de la longueur d'onde du maximum d'émission des microgels Ru2PBA (■) et Ru15PBA (●) dans une solution tampon 20 mM pH 8,5 à 25°C. La concentration en ruthénium dans les échantillons est de  $1,4 \cdot 10^{-5}$  M pour l'échantillon Ru2PBA et  $3,7 \cdot 10^{-5}$  M pour le Ru15PBA.  $\lambda_{exc} = 455$  nm.

On constate dans un premier temps qu'il y a une bonne corrélation entre l'évolution du taux de gonflement et les variations des propriétés de photoluminescence. Les deux échantillons de microgels n'ont pas la même sensibilité au sucre. La variation du taux de gonflement est beaucoup plus importante dans le cas de l'échantillon Ru2PBA. La diminution de l'intensité de fluorescence est également plus importante pour cet échantillon. Après l'ajout de 10 mM de fructose, on ne retrouve plus que 40% du signal de départ avec le Ru2PBA contre 65% avec le Ru15PBA. Plus le taux de gonflement des microgels est élevé, plus la luminescence diminue. Les valeurs de longueurs d'onde du maximum d'émission diminuent de façon similaire pour les deux



échantillons, avec un décalage du maximum d'émission de 8 à 10 nm. Le même phénomène est donc à l'origine de ce déplacement. En absence de glucose, les microgels présentent un maximum d'émission à 595 nm ou 602 nm en fonction de l'échantillon, ce qui est une valeur inférieure à celle du  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$  en solution et des microgels non fonctionnalisés par les boronates (cf partie III.3.1 et III.3.2). Ce déplacement vers le bleu peut s'expliquer par la proximité des noyaux aromatiques des boronates avec les complexes de ruthénium. En présence de sucre, la matrice gonfle, ce qui induit un éloignement des chromophores et des cycles aromatiques.

### IV.3. Influence de la concentration en fructose sur l'ECL

Après avoir étudié les propriétés de photoluminescence des microgels, nous nous sommes intéressés à leurs propriétés d'ECL en fonction de la concentration en fructose. En guise d'étude préliminaire, nous vérifions que la présence de fructose n'a pas d'incidence sur les propriétés ECL du  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$  en solution.

L'étude est réalisée sur les deux échantillons de microgels Ru2PBA et Ru15PBA dans un tampon phosphate 20 mM pH 8,5 à 25°C. Les deux échantillons ont conduit à des conclusions identiques, nous ne présentons les résultats que pour l'échantillon contenant le plus de complexes de ruthénium.

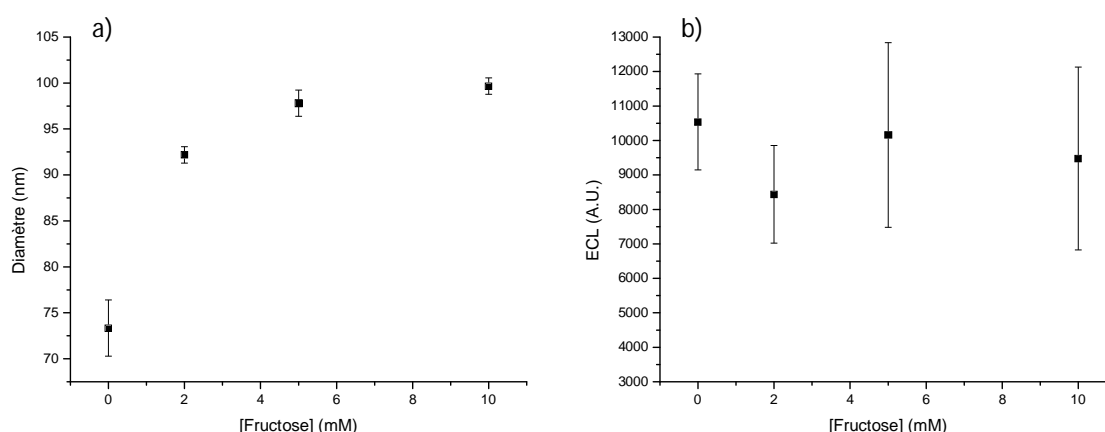


Figure II. 44 : Evolution en fonction de la concentration en fructose a) du diamètre hydrodynamique et b) de l'intensité ECL pour les microgels Ru15PBA dans une solution tampon 20 mM pH 8,5 et 10 mM TPrA à 25°C. La concentration en ruthénium est de  $3,7 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ .

A teneur égale en  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$ , l'intensité ECL est plus faible que celle de l'échantillon de microgel homologue non fonctionnalisé NiRu15. Cette différence d'intensité peut être expliquée par les différentes conditions de pH utilisées, ici 8,5 alors que le pH était de 7,4 dans les études précédentes. En effet le mécanisme d'ECL est connu pour être sensible au pH.<sup>18</sup>

Le signal ECL ne varie pas en présence de différentes concentrations en fructose, et ce, malgré le changement de taille. Ce résultat est en désaccord avec le mécanisme discuté dans la partie III.5, selon lequel le signal ECL devrait être exalté lors de la contraction des microgels. Dans le cas des microgels sensibles au fructose, une diminution de l'intensité ECL était attendue, liée à l'augmentation de la distance entre les complexes de ruthénium. Nous analysons ci-après les origines de cette différence de comportement. Deux explications sont possibles : soit les boronates interfèrent dans le mécanisme ECL, soit les microgels ne possèdent pas les mêmes propriétés de gonflement lors de l'expérience ECL que lors de la mesure en DLS. L'application d'un potentiel de 1,3 V, ou alors la présence de radicaux, pourrait avoir des conséquences sur l'oxydation des espèces impliquées dans le processus de gonflement. Afin de vérifier l'hypothèse de l'oxydation à l'électrode, les microgels, ainsi qu'une solution d'acide phénylboronique sont étudiés en DPV (cf Figure II. 45).

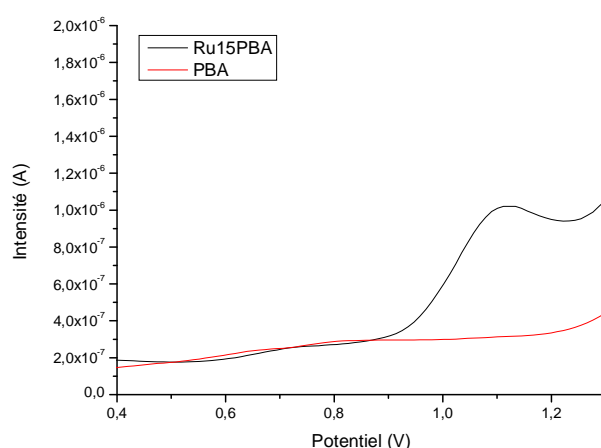


Figure II. 45 : Voltampérométrie différentielle à impulsion des microgels Ru15PBA (—) et d'acide phénylboronique(—). Les mesures sont réalisées avec une électrode en carbone vitreux dans un tampon phosphate 20 mM pH 8,5 à 25°C.

L'échantillon de microgels ne présente qu'un seul pic d'oxydation à un potentiel d'environ 1,1 V, ce qui correspond au potentiel d'oxydation du ruthénium déjà observé précédemment. Afin de vérifier que le pic observé est uniquement dû à l'oxydation du ruthénium, nous avons également fait l'expérience sur une solution d'acide phénylboronique. Elle permet alors de confirmer que les boronates ne sont pas électroactifs dans le domaine de potentiel étudié. Leur oxydation à l'électrode n'est donc pas la cause de l'absence de modification des propriétés d'ECL.

Dans cette partie, nous avons démontré que les microgels luminescents sensibles aux sucres peuvent être utilisés comme capteurs grâce à la modification de leurs propriétés de photoluminescence. En revanche, pour des raisons actuellement inconnues, l'ECL ne permet pas de déterminer la présence ou non de fructose dans le milieu d'étude. Une nouvelle fois nous constatons que les deux techniques apportent des résultats différents et seulement l'une des deux ouvre des perspectives intéressantes. L'une d'entre elles est d'utiliser un autre dérivé de l'acide phénylboronique, le 4-(1,6-dioxo-2,5-diaza-7-oxanyl) acide phénylboronique, dont le pKa est de 7,8.<sup>76</sup> Ainsi nous pourrions préparer des microgels capables de détecter la présence de saccharides à un pH proche de la valeur physiologique.

## **V. Modification des propriétés de luminescence de microgels thermosensibles par transfert d'énergie entre molécules fluorescentes**

Cette partie est consacrée au développement de microgels électrochimiluminescents capables de changer de longueur d'onde d'émission en fonction de leur état de gonflement. Pour cela, nous allons exploiter le phénomène de transfert d'énergie par résonance entre deux molécules luminescentes. Avant de présenter les résultats, nous allons expliquer ce phénomène, puis nous présenterons un aperçu des microgels fluorescents dans lequel ce principe est utilisé, ainsi que les premiers travaux sur le transfert d'énergie par résonance en ECL.

## V.1. Objectifs et contexte

### V.1.1. Rappel du principe de FRET

Le transfert d'énergie entre molécules fluorescentes ou transfert d'énergie par résonance de type Förster (FRET) a été observé par Perrin au début du XX<sup>e</sup> siècle, mais est décrit pour la première fois par Théodore Förster en 1948.<sup>77</sup> D'après lui, ce procédé est défini comme un transfert d'énergie entre une molécule fluorescente dans son état excité, appelée donneur, et un chromophore appelé accepteur. Dans la majorité des cas, le donneur et l'accepteur sont des molécules fluorescentes. Le transfert d'énergie entre le donneur (D) et l'accepteur (A) n'est pas un processus radiatif, mais résulte d'interactions dipôle-dipôle intermoléculaires de longue portée. Plusieurs conditions doivent être réunies pour que le transfert d'énergie puisse avoir lieu. Tout d'abord, le spectre d'émission de D et le spectre d'absorption de A doivent se recouvrir (cf Figure II. 46).<sup>78</sup> Ce recouvrement est la preuve qu'une partie de l'énergie du donneur peut être absorbée par l'accepteur.

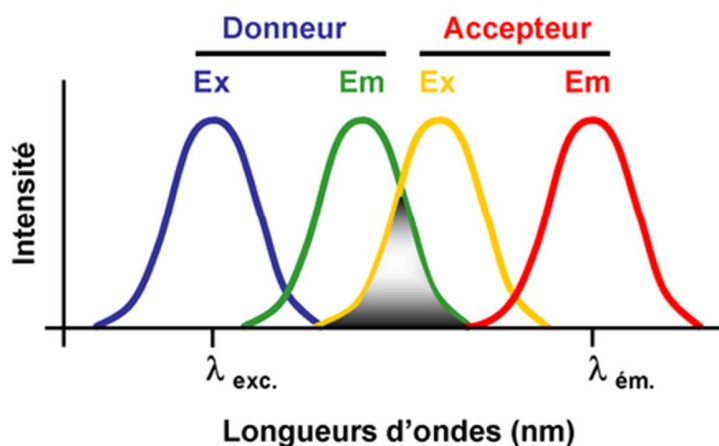


Figure II. 46 : Chevauchement du spectre d'émission du donneur et du spectre d'absorption de l'accepteur.

Une autre condition indispensable est la capacité des dipôles de transition de D et de A à s'orienter l'un avec l'autre, afin de pouvoir interagir. Ceci nécessite qu'au moins l'une des deux molécules ait un degré de liberté de rotation rapide. Enfin la distance entre les chromophores, qui

est un paramètre clef dans ce phénomène, doit être inférieure à 10 nm. Au-delà de cette distance le transfert d'énergie ne peut plus avoir lieu. L'efficacité du transfert d'énergie, quant à elle, est liée au rendement quantique de D et au coefficient d'absorption de A. Plus ces valeurs sont élevées, plus la quantité d'énergie transférée est grande. Pour un couple donné de donneur et d'accepteur, la distance qui les sépare va également permettre de moduler la quantité d'énergie transférée. En effet l'efficacité du transfert est inversement proportionnelle à la distance, notée R, entre D et A à la puissance 6.<sup>79</sup> Ainsi il existe une distance caractéristique à laquelle 50% de l'énergie de D est transmise à A, appelée longueur de Förster, et notée  $R_0$ . La valeur de cette distance est propre à chaque couple de chromophores. Grâce à ces caractéristiques, le phénomène de FRET est employé dans de nombreux domaines telles que la biophysique (changement de conformation de protéines ou de l'ADN), la physicochimie des polymères (miscibilité de polymères) ou encore en chimie analytique (design de capteurs ou de plateforme de diagnostic).<sup>78-80</sup>

### V.1.2. Transfert d'énergie par résonance en ECL (ECRET)

Le transfert d'énergie entre deux entités luminescentes est également possible lorsque le donneur atteint l'état excité par voie électrochimique. Ce processus est appelé transfert d'énergie par résonance en électrochimiluminescence (ECRET). Les conditions pour que ce transfert soit possible sont les mêmes que dans le cas du FRET. Bien évidemment, le donneur doit pouvoir atteindre l'état excité selon le processus d'ECL, ce qui limite le nombre de donneurs possibles. Il est préférable de choisir un accepteur qui ne soit pas capable d'émettre un signal ECL afin d'exciter sélectivement le donneur. L'avantage de cette technique par rapport au FRET est l'absence de source lumineuse, ce qui permet d'éviter les problèmes liés à la diffusion et au bruit de fond.

D'une manière générale, le phénomène d'ECRET est souvent décrit entre un luminophore organique et un quantum dot. Ce dernier peut être aussi bien utilisé comme donneur ou accepteur d'énergie. Les travaux de l'équipe de Jin ont permis de mettre au point un système composé de quantum dots de CdSe/ZnS capable d'accepter l'énergie du luminol excité par voie électrochimique en présence de peroxyde d'hydrogène.<sup>81,82</sup> Dans ce cas, la composition du quantum dot ne lui permet pas d'être électrochimiquement actif. Il ne peut donc pas émettre de

signal ECL. Ce système a pour but d'étudier les interactions entre brins d'ADN, ainsi que les changements de conformation de ces derniers. Ces deux phénomènes modifient la distance qui sépare le donneur et l'accepteur, modulant ainsi l'efficacité du transfert d'énergie. La luminescence émise par les quantum dots est intense, car plusieurs molécules de luminol peuvent lui transmettre de l'énergie. La même équipe a également développé un système similaire à celui-ci, toujours dans le but d'étudier les interactions et les changements de conformation de brins d'ADN, mais également de protéines.<sup>83,84</sup> Dans ces travaux, les quantum dots sont utilisés comme donneur d'énergie et une molécule organique de la famille des cyanines est choisie comme accepteur. Selon les auteurs, les signaux enregistrés avec ce couple sont plus intenses. Le transfert d'énergie est également plus efficace, car un quantum dot est susceptible de transférer son énergie à huit molécules de cyanine 5.

Un autre système capable de transférer de l'énergie entre un quantum dot (donneur) et un complexe de  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$  (accepteur) a été développé par l'équipe de Chen.<sup>85</sup> Les complexes de ruthénium sont immobilisés à la surface de cellules. Les quantum dots quant à eux sont immobilisés à la surface d'une électrode de carbone vitreux et fonctionnalisés avec des anticorps pouvant se lier aux antigènes présents à la surface de certaines cellules. Cette reconnaissance permet alors au couple donneur-accepteur d'être suffisamment proche l'un de l'autre pour échanger de l'énergie. Ce système détecte la présence de cellules spécifiques à une concentration minimum de 12,5 cellules par mL. Cette méthode simple, rapide et sensible semble très prometteuse pour l'analyse de cellules.

Peu de travaux décrivent le phénomène d'ECRET uniquement entre molécules organiques. Parmi ceux-ci l'étude réalisée par l'équipe de Prodi est très originale car elle présente le transfert d'énergie entre trois fluorophores confinés dans des nanoparticules.<sup>86</sup> Ces dernières, sont composées d'un cœur en silice et d'une écorce de polyéthylène glycol. Trois fluorophores différents sont chargés dans ces matériaux : le 9,10-diphénylanthracène (DPA), la rhodamine B et une cyanine 5. Les auteurs ont mis en évidence un transfert d'énergie entre les couples DPA/rhodamine B et DPA/cyanine 5, ainsi qu'entre la triade DPA/rhodamine B/cyanine 5 en présence du co-réactif DBAE (cf Figure II. 47).

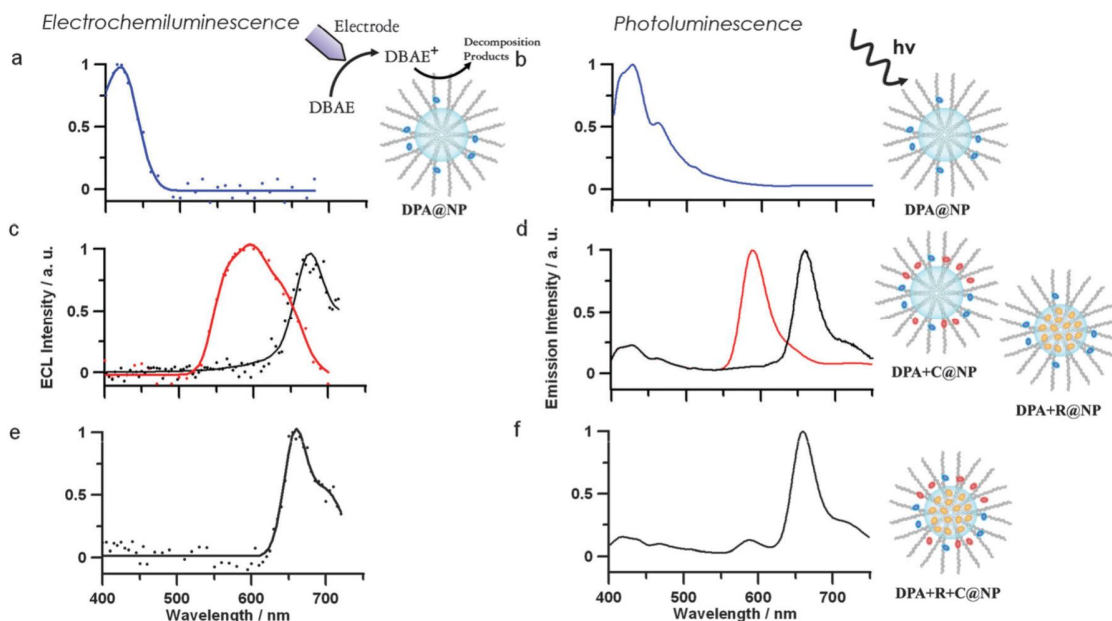


Figure II. 47 : Spectres normalisés d'ECL (à gauche) et de PL (à droite) contenant les différents fluorophores : (a, b) la DPA seule, (c, d) le couple DPA/rhodamine B (ligne rouge) et DPA/cyanine 5 (ligne noire) et (e, f) la triade DPA/rhodamine B/cyanine 5.<sup>86</sup>

Ces travaux montrent que le transfert d'énergie entre molécules organiques en ECL est possible. Cependant ce système ne permet pas de faire varier la distance entre les fluorophores, ce qui ne permet pas de moduler l'efficacité du transfert.

### V.1.3. Stratégie développée pour l'étude des microgels

Dans cette partie nous allons présenter les fluorophores que nous avons choisis pour notre étude. Etant donné que nous souhaitons étudier le transfert d'énergie au sein de nos microgels en photoluminescence et en ECL, nous devons choisir un donneur photoluminescent qui est également capable d'atteindre son état excité par voie électrochimique. Le complexe de ruthénium, que nous avons étudié jusqu'à présent, remplit parfaitement ces conditions. A présent, nous devons choisir un accepteur dont le spectre d'absorption chevauche le spectre d'émission du complexe métallique, et dont l'émission est suffisamment éloignée de celle du  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$ , afin de pouvoir distinguer la contribution des deux fluorophores. Notre choix s'est alors orienté vers une famille de marqueurs synthétiques : les cyanines. Ce sont des polyméthines contenant un atome d'azote à chaque extrémité de la chaîne polyméthine (cf Figure II. 48)

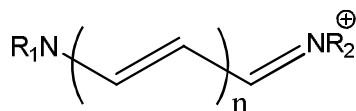


Figure II. 48 : Structure chimique des cyanines.

En règle générale, pour désigner un fluorophore particulier de la famille, le nom cyanine est suivi d'un numéro. Ce numéro donne une indication sur le nombre de carbones entre les deux atomes d'azote. De plus, ce nombre de carbones va fixer les propriétés de fluorescence. Dans notre cas, la cyanine la plus adaptée est la cyanine 5, car elle permet un recouvrement satisfaisant avec le spectre d'émission du  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$  (cf Figure II. 49). De plus, elle est fonctionnalisée par deux groupements sulfonates qui permettent d'assurer une bonne solubilité de la molécule en milieu aqueux.

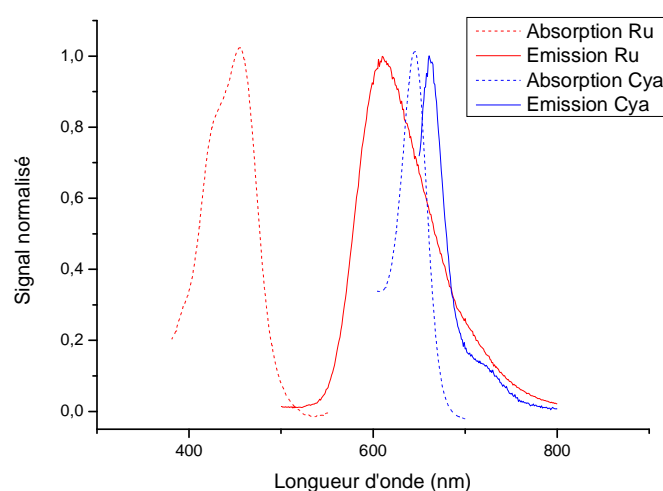


Figure II. 49 : Spectre d'émission et d'absorption du  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$  et de la Cya5-NHS.

Les travaux de l'équipe de Prodi, présentés précédemment, rapportent que la cyanine est capable d'absorber de l'énergie d'une autre molécule fluorescente lors d'expériences ECL.<sup>86</sup> De plus, le phénomène de FRET entre un complexe de ruthénium et une molécule issue de la famille



des cyanines a également été mis en évidence dans les travaux de Descalzo et *al.*<sup>87</sup> Ces résultats sont encourageants et nous confortent dans notre choix du couple donneur/accepteur.

## V.2. Etude de microgels d'architecture « simple »

Dans cette partie, nous allons présenter les résultats obtenus en photoluminescence et en ECL sur des microgels qui ne présentent pas de structure interne particulière. Nous allons, dans un premier temps, vérifier que le transfert d'énergie a bien lieu en photoluminescence, et nous étudierons ensuite le système en ECL.

### V.2.1. Caractérisation des microgels

Comme décrit en partie expérimentale, la Cya5 est greffée a posteriori sur les microgels. En effet, les cyanines peuvent être dégradées en présence de radicaux et ne supporteront pas d'être introduites par copolymérisation radicalaire.<sup>88</sup> Un couplage peptidique est alors envisagé entre les fonctions amines introduites sur les microgels et la fonction N-hydroxysuccinimide (NHS) de la cyanine. La structure finale des microgels ainsi synthétisés est présentée Figure II. 50.

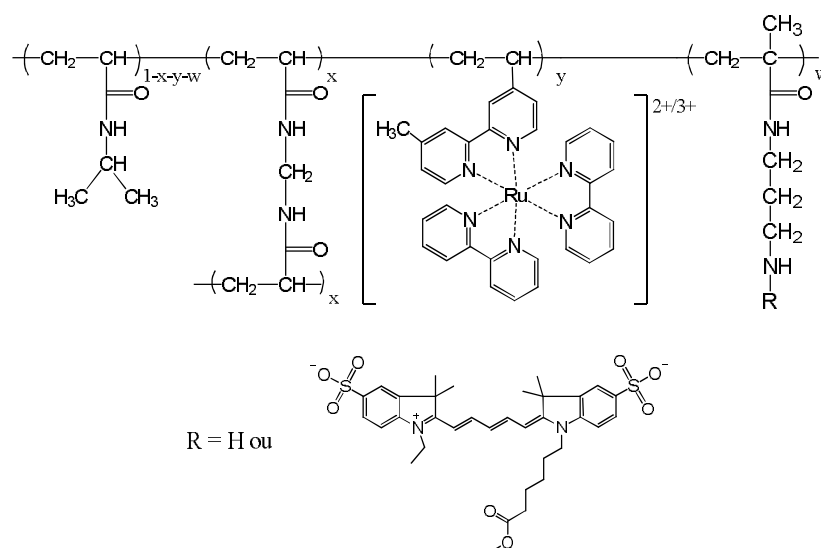


Figure II. 50 : Structure chimique des microgels. R est un hydrogène avant la fonctionnalisation ou la Cya5 après.

Des microgels contenant différentes teneurs et différents ratios en  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$  et en APM ont été préparés. Les compositions des différents échantillons de microgels sont présentées dans le Tableau II. 5.

Tableau II. 5 : Récapitulatif de la composition des échantillons de microgels

Nom	% molaire de $\text{mRu}(\text{bipy})_3^{2+}$ introduit	% molaire de $\text{mRu}(\text{bipy})_3^{2+}$ incorporé <sup>i</sup>	% molaire d'APM introduit	$d_H$ (nm) T= 25°C (PDI)	$d_H$ (nm) T= 40°C (PDI)
<b>Ru0AP15</b>	0	0	1,5	600 (0,15)	243 (0,08)
<b>Ru2AP4</b>	0,2 %	0,19 %	0,4 %	349 (0,04)	164 (0,02)
<b>Ru3AP15</b>	0,3 %	0,44 %	1,5 %	244 (0,04)	127 (0,01)
<b>Ru6AP30</b>	0,6 %	1,24 %	3 %	198 (0,07)	113 (0,01)

<sup>i</sup> Pourcentage molaire de ruthénium incorporé dans les microgels déterminé par ICP-AES.

Les trois échantillons de microgels ont des tailles homogènes comprises entre 198 nm et 349 nm dans l'état gonflé. Plus la quantité de monomère cationique ajoutée dans le milieu de synthèse est grande, plus les microgels sont petits. Comme déjà observé dans la partie III.2., ces entités cationiques semblent jouer le même rôle que l'ajout de tensioactif, à savoir de stabiliser les nuclei en croissance, donnant ainsi naissance à des microgels de petites tailles.

Avant fonctionnalisation des microgels par la cyanine, le comportement en fonction de la température est étudié afin de déterminer l'impact des monomères cationiques sur la transition de phase des microgels. L'évolution du diamètre hydrodynamique en fonction de la température est présentée Figure II. 51.

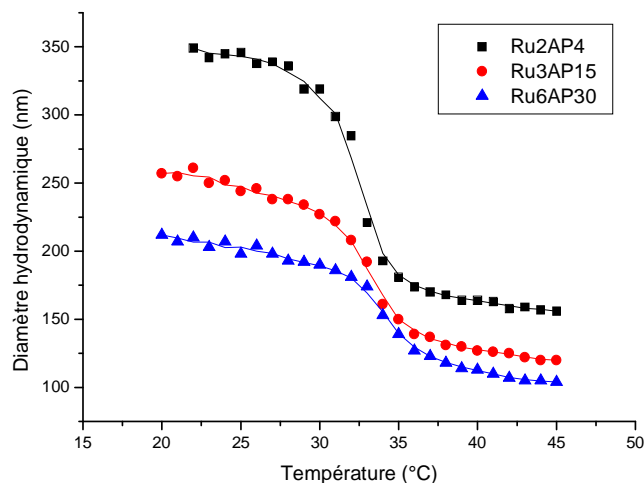


Figure II. 51 : Evolution du diamètre hydrodynamique des échantillons Ru2AP4 (■), Ru3AP15 (●) et Ru6AP30 (▲) en fonction de la température dans une solution tampon phosphate 4 mM pH 7,4.

Les trois échantillons ont conservé leur caractère thermosensible, bien que la présence des charges modifie légèrement leur comportement. En effet, les trois échantillons qui contiennent le plus de charges ont une transition de phase moins abrupte que l'échantillon Ru2AP4. Les répulsions électrostatiques s'opposent à la contraction des microgels et la présence de contre ions exerce une pression osmotique. La transition de phase est donc plus douce.

Une fois les microgels fonctionnalisés par la Cya5, nous ne pouvons plus caractériser les microgels par DLS. Le laser de l'appareil, qui a une longueur d'onde de 633 nm, provoque la fluorescence de la cya5. Le signal enregistré ne permet donc pas de déterminer la taille des microgels, car il est essentiellement issu de la fluorescence de la cyanine. Cependant, nous avons tout de même pu constater visuellement qu'après fonctionnalisation, les microgels s'agrègent lorsqu'ils sont dans l'état contracté ( $T > 35$  °C) dans le tampon 20 mM pH 7,4 utilisé pour les expériences d'ECL. Cette agrégation ne permettant pas d'étudier les phénomènes de transfert d'énergie dans de bonnes conditions, nous avons été obligés de diminuer la force ionique de notre solution tampon à 4 mM. Ainsi, les microgels sont stables sur tout le domaine de température étudié.

### V.2.2. Transfert d'énergie initié par photoluminescence

Dans cette partie nous souhaitons étudier le phénomène de FRET entre le complexe de ruthénium et la cyanine en fonction du taux de gonflement des microgels. Etant donné que nous travaillons toujours avec la température comme levier, nous avons tout d'abord vérifié l'influence de celle-ci sur les propriétés de fluorescence de chaque fluorophore. L'étude complète est présentée pour l'échantillon Ru2Cya4 Figure II. 52.

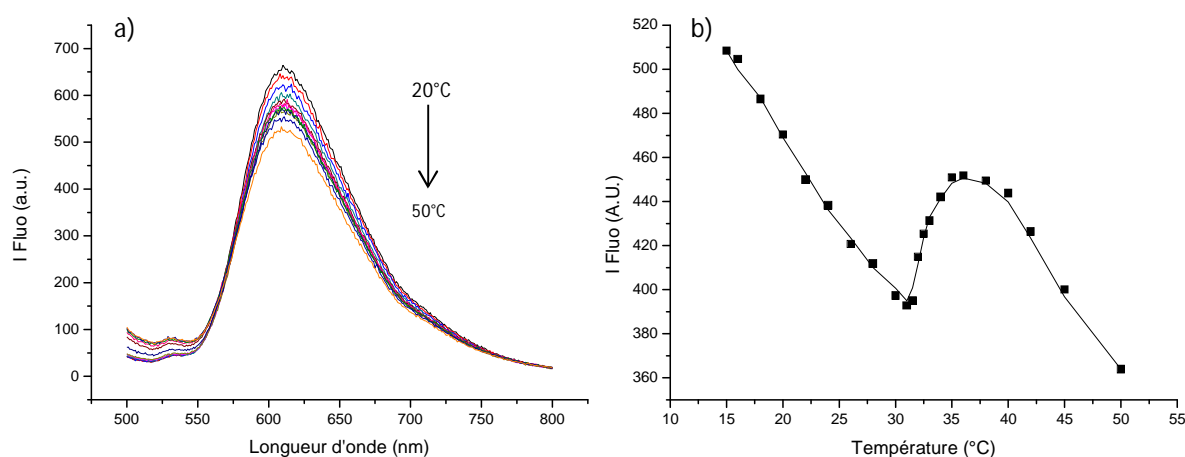


Figure II. 52 : a) Spectre de photoluminescence des microgels Ru2AP4 avant fonctionnalisation avec la cyanine ( $\lambda_{exc} = 454 \text{ nm}$ ) à différentes températures. b) Evolution du maximum d'intensité ( $\lambda_{em} = 610 \text{ nm}$ ) en fonction de la température dans un tampon phosphate 4 mM pH 7,4. La concentration en ruthénium est de  $2,5 \cdot 10^{-7} \text{ M}$ .  $\lambda_{exc} = 454 \text{ nm}$ .

Contrairement aux échantillons de microgels copolymérisés avec du  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$  étudiés dans la partie III, la diminution du maximum d'émission en fonction de la température n'est pas linéaire. Une exaltation se produit aux environs de la transition de phase, ce qui n'avait pas été observé. Ce phénomène se produit pour les microgels contenant peu de complexe de ruthénium et s'atténue quand la teneur en luminophore augmente (cf Figure II. 53). Son origine est à ce jour inconnue. Elle nécessite des études plus approfondies comme par exemple des études de temps de vie.

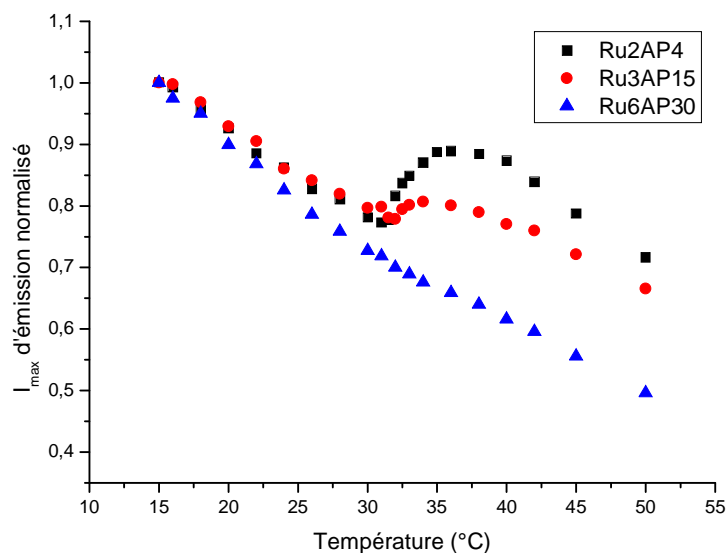


Figure II. 53 : Evolution du maximum d'intensité d'émission des échantillons Ru2AP4 (■), Ru3AP15 (●) et Ru6AP30 (▲) en fonction de la température dans une solution tampon phosphate 4 mM pH 7,4. La concentration en ruthénium pour les différents échantillons est respectivement :  $2,5 \cdot 10^{-7}$  M,  $7,2 \cdot 10^{-7}$  M et  $8,4 \cdot 10^{-7}$  M.  $\lambda_{exc} = 454$  nm.

L'influence de la température sur la photoluminescence est étudiée sur les microgels après fonctionnalisation. On s'intéresse tout d'abord à la cyanine. Les microgels sont donc excités à la longueur d'onde correspondante au maximum d'absorption de la cyanine (644 nm). Les propriétés de fluorescence évoluent de façon similaire quel que soit l'échantillon étudié. L'augmentation de la température provoque une diminution linéaire de l'intensité de fluorescence (cf Figure II. 54). L'augmentation de la température favorise les processus de désexcitation non radiatifs. La transition de phase des microgels n'a donc pas d'influence sur la fluorescence de la cyanine.

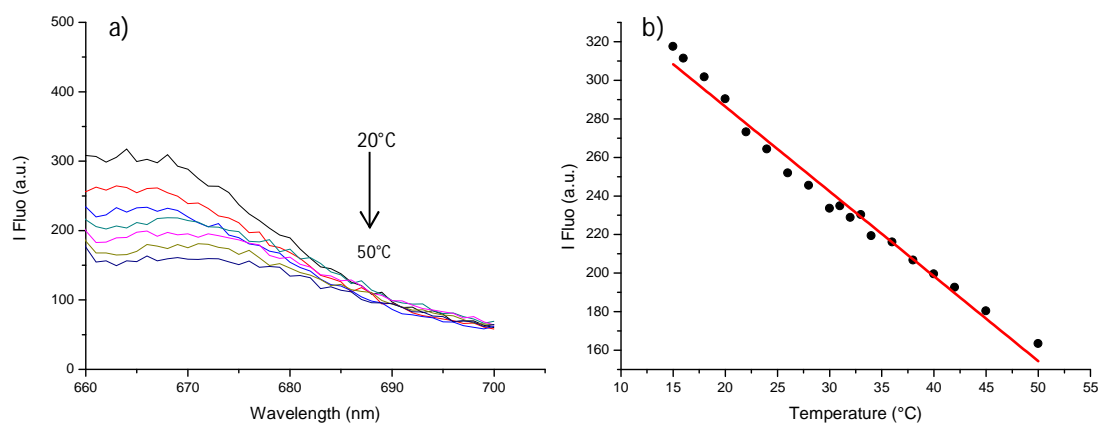


Figure II. 54 : a) Spectres de photoluminescence des microgels Ru2Cya4 ( $\lambda_{exc} = 644$  nm) à différentes températures. b) Evolution du maximum d'intensité ( $\lambda_{em} = 670$  nm) en fonction de la température dans un tampon phosphate 4 mM pH 7,4.

Le phénomène de FRET est alors étudié sur les échantillons fonctionnalisés avec la cyanine. Les spectres obtenus, en excitant à la longueur d'onde du maximum d'absorption du Ru(bipy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>, sont présentés Figure II. 55.

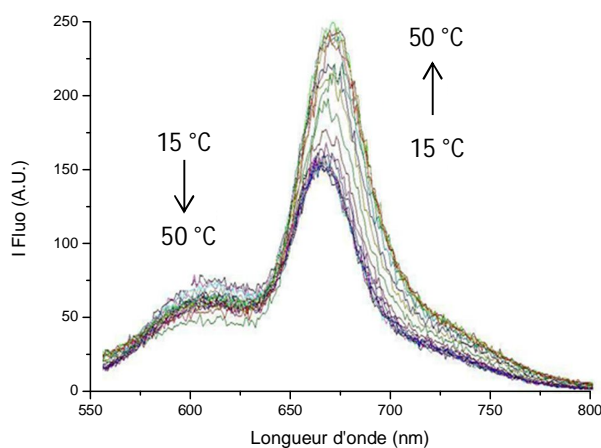


Figure II. 55 : Spectres de photoluminescence des microgels Ru2Cya4 à différentes températures. La concentration en ruthénium est de  $2,5 \cdot 10^{-7}$  M.  $\lambda_{exc} = 454$  nm

Les spectres présentent deux pics distincts, l'un à 610 nm correspondant à l'émission du complexe de ruthénium, et le second à 670 nm dû à la fluorescence de la cyanine. L'émission de photons par cette dernière ne peut être le résultat que d'un transfert d'énergie entre le complexe de ruthénium et la cya5. Une seconde preuve que le transfert d'énergie a lieu, est l'exaltation du signal de fluorescence de la cyanine lorsque la température augmente. Cette dernière provoque la contraction des microgels et donc une diminution de la distance entre les fluorophores, ce qui améliore l'efficacité du transfert d'énergie. Afin de vérifier s'il existe une corrélation entre une augmentation de l'efficacité du transfert et le diamètre des microgels nous avons confronté ces valeurs sur un même graphique. Pour cela nous avons calculé le ratio de fluorescence de l'accepteur et du donneur pour chaque température étudiée.

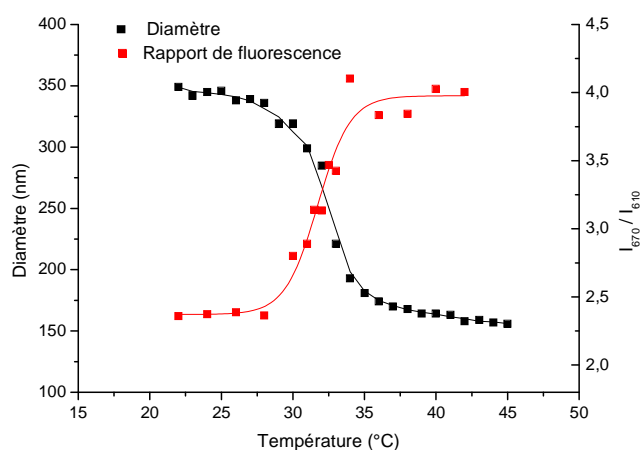


Figure II. 56 : Evolution du diamètre hydrodynamique des microgels Ru2AP4 (■) et du rapport de l'intensité de fluorescence accepteur sur donneur ( $\lambda_{exc} = 454$  nm) des microgels Ru2Cya4 (■) en fonction de la température dans un tampon phosphate 4 mM pH 7,4. La concentration en ruthénium est de  $2,5.10^{-7}$  M.  $\lambda_{exc} = 454$  nm.

Les résultats présentés Figure II. 56 montrent que la courbe du ratio de fluorescence décrit la courbe inverse de l'évolution du diamètre hydrodynamique en fonction de la température. Avant et après la transition de phase, le ratio des intensités est constant, c'est uniquement lors de la contraction des microgels qu'il augmente d'un facteur d'environ 1,7. Ces résultats prouvent que les deux paramètres sont corrélés et que le transfert d'énergie est possible entre les complexes de ruthénium et les molécules de Cya5. La même étude est alors réalisée sur les deux

autres échantillons de microgels ayant des teneurs différentes en luminophore. Ainsi nous allons pouvoir vérifier qu'en modifiant le nombre d'accepteurs par donneur il est possible de moduler le phénomène de FRET. La Figure II. 57 présente le ratio des intensités de fluorescence pour chaque échantillon avant (20 °C), et après la transition de phase (40 °C).

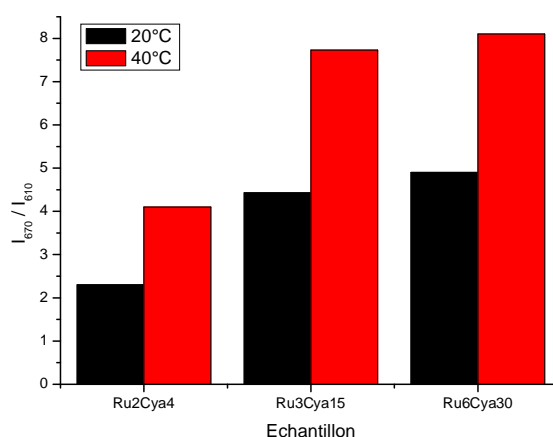


Figure II. 57 : Rapport entre intensités émises par la cyanine et le ruthénium à 20°C (noir) et à 40°C (rouge) pour les microgels contenant différents ratio de fluorophores dans un tampon phosphate 4mM pH 7,4. Les concentrations en ruthénium sont respectivement de :  $2,5.10^{-7}$  M,  $7,23.10^{-7}$  et  $8,4.10^{-7}$  M.  $\lambda_{exc} = 454$  nm.

On constate que le ratio des intensités avant la transition de phase est différent lorsque l'on change le nombre d'accepteurs par donneur. Ce ratio est d'autant plus grand que le rapport accepteur / donneur est grand. Les microgels contenant 0,3 % de  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$  et 1,5 % de Cya5, ont un comportement quasi identique à celui des microgels contenant 0,6 %  $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$  et 3 % de Cya5. Ces résultats tendent à montrer que le transfert est constant pour un rapport entre accepteur et donneur donné. La quantité de donneurs semble avoir peu d'influence sur l'efficacité du transfert.

Nous avons également comparé l'augmentation du transfert d'énergie en fonction de la composition en fluorophore de la matrice. Pour cela nous avons calculé le rapport du ratio des intensités de fluorescence à 40 °C sur le ratio des intensités à 20 °C, les données sont répertoriées dans le Tableau II. 6.



## Chapitre II : Microgels électrochimiluminescents pour le développement d'une nouvelle gamme de biocapteurs

Tableau II. 6 : Récapitulatif du rapport des intensités d'émission et des distances estimées entre fluorophores.

Echantillon	$I_{670}/I_{610}$	$I_{670}/I_{610}$	Exaltation du FRET	Distance moyenne $x$ entre A et D	Distance moyenne $x$ entre A et D	$\frac{x_{50}}{x_{25}}$
	25 °C	50 °C		25°C (nm)	50°C (nm)	
<b>Ru2Cya4</b>	2,3	4,1	1,78	7,1	3,3	0,47
<b>Ru3Cya15</b>	4,4	7,7	1,74	4,5	2,3	0,52
<b>Ru6Cya30</b>	4,9	8,1	1,65	3,3	1,9	0,57

Ce tableau met en évidence que la composition des microgels n'a pas d'influence sur l'accroissement de l'efficacité du FRET. Quelle que soit la composition étudiée, le rapport des intensités de fluorescence est multiplié par un facteur proche de 1,7. La composition en fluorophores des microgels ne permet pas de modifier l'amplification du transfert d'énergie mais uniquement le ratio des intensités de fluorescence à une température donnée. La distance entre les fluorophores est calculée à partir du volume d'un microgel et du nombre de motifs par microgels. Nous admettons que la répartition des fluorophores est statistique dans la matrice polymère. Ces calculs nous permettent alors de constater que le rapport des distances moyennes entre fluorophores dans l'état contracté et dans l'état gonflé reste constant quel que soit l'échantillon étudié.

Dans cette partie nous avons mis en évidence que le transfert d'énergie entre le couple donneur/accepteur sélectionné est possible. De plus, la diminution de la distance donneur-accepteur lors de la contraction des microgels permet d'augmenter la quantité d'énergie transférée. Nous avons également pu constater que la composition en fluorophores des microgels influence le ratio des intensités mais n'améliore pas l'amplification de l'efficacité du transfert d'énergie.

### V.2.3. Etude des propriétés d'ECL

Nous souhaitons à présent étudier le transfert d'énergie entre le donneur et l'accepteur lorsque le complexe de ruthénium est excité par voie électrochimique. Les expériences sont

également réalisées dans un tampon 4 mM afin de s'assurer que les microgels ne s'agrègent pas lorsque la température est supérieure à la transition de phase volumique. Etant donné que le DBAE permet d'obtenir des signaux d'ECL plus intenses, nous l'avons utilisé comme co-réactif avec l'échantillon contenant la plus grande quantité de fluorophores (Ru6Cya30).

La génération d'ECL est alors étudiée suivant le même protocole utilisé pour les microgels contenant uniquement les complexes de ruthénium. Les spectres enregistrés avec les microgels Ru6Cya30 à 20 °C et à 40 °C sont présentés Figure II. 58.

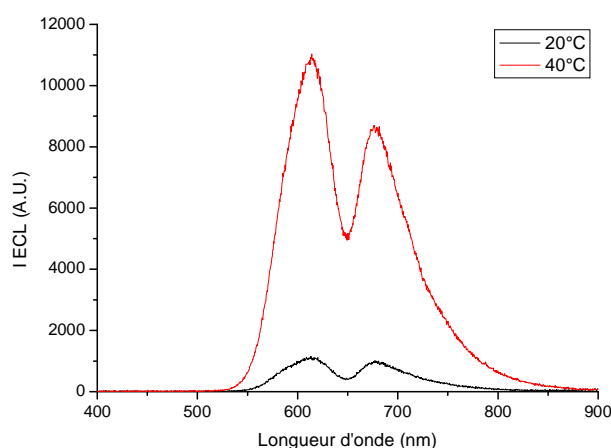


Figure II. 58 : Spectres enregistrés pendant les expériences de voltampérométrie cyclique à 20°C (—) et à 40°C (—) de l'échantillon Ru6Cya30 dans un tampon phosphate 4mM pH 7,4 et 10 mM de DBAE. La concentration en ruthénium est de  $1,7 \cdot 10^{-6}$  M.

Les expériences d'ECL mettent en évidence la présence de deux pics qui semblent correspondre aux pics de chaque fluorophore incorporé dans la matrice polymère. On note aussi que l'augmentation de la température se traduit également par une exaltation du signal ECL comme déjà observé précédemment. Des résultats similaires à ceux présentés Figure II. 58 sont également obtenus avec les deux autres échantillons de microgels. Bien que la forme des spectres semble suggérer que le transfert d'énergie ait lieu, l'analyse des données nous mène à une interprétation différente. Une première constatation surprenante est que le pic attribué à l'émission de la cyanine demeure de plus faible amplitude que celui des complexes de ruthénium. Par ailleurs, le ratio entre les deux pics ne varie pas lorsque les microgels se contractent. Ces

résultats ne sont pas cohérents avec l'étude réalisée en photoluminescence, où le pic d'émission de la cyanine est environ 5 fois plus intense avant la transition, et 8 fois plus intense dans l'état contracté. Malgré la forme des spectres observés, nous en concluons qu'il n'y a pas de transfert d'énergie entre les complexes de ruthénium et les molécules de cyanine en ECL. La question qui se pose alors est : pourquoi observons-nous deux pics distincts si le transfert d'énergie ne se fait pas ?

En analysant plus attentivement le pic d'émission du ruthénium, on constate qu'il est beaucoup moins large que lors des expériences précédentes. Etant donné que la solution de microgels étudiée est bleu intense, nous supposons qu'il y a un phénomène d'absorption de la luminescence du ruthénium. Une hypothèse est alors émise : les deux pics seraient le résultat d'une convolution entre le spectre d'émission du ruthénium et du spectre d'absorption de la cyanine. Afin de vérifier cette hypothèse, nous comparons les spectres d'ECL des microgels avant et après fonctionnalisation avec le spectre de transmission de la cya5-NHS (cf Figure II. 59).

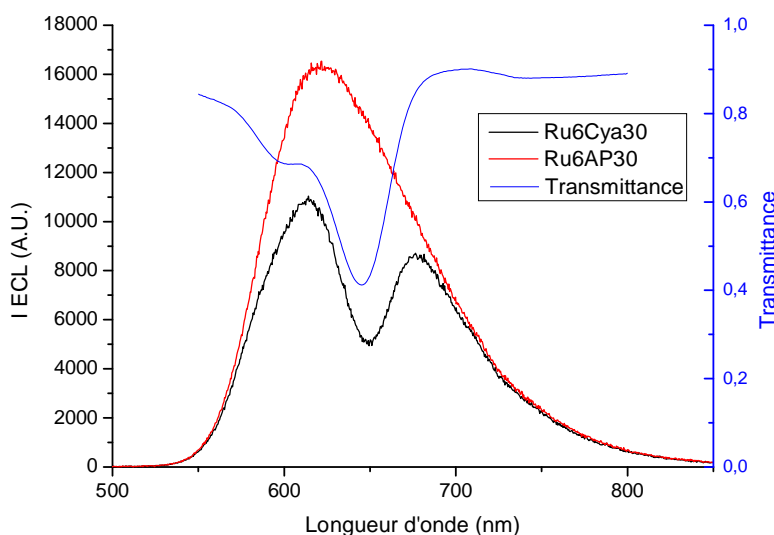


Figure II. 59 : Spectre enregistré pendant les expériences de voltampérométrie cyclique à 40°C de Ru6AP30 (—) et de Ru6Cya30 (—) dans un tampon phosphate 4mM pH 7,4. Spectre de transmittance de la cya5-NHS (—). La concentration en ruthénium est de  $1,7.10^{-6}$  M.

La comparaison des spectres ECL avant et après fonctionnalisation, à une concentration fixe de microgels, permet de mettre en évidence que les molécules de cyanine n'émettent pas de luminescence. En effet, les spectres se superposent entre 700 et 800 nm, ce qui prouve que la cyanine ne contribue pas au signal enregistré et qu'il n'y a donc pas de transfert d'énergie. La comparaison avec le spectre de transmission de la cya5-NHS confirme que notre hypothèse concernant la convolution des spectres est plausible. Le minimum de transmittance de la solution de cya5 correspond au minimum entre les deux pics de l'échantillon Ru6Cya30. Une partie du signal ECL généré à la surface de l'électrode est absorbée par la solution qui se trouve entre la surface de l'électrode et le détecteur. Dans le but de confirmer ou d'infirmer définitivement l'hypothèse de l'absorption du signal par la cyanine, nous avons étudié l'influence de la distance parcourue par les photons dans la solution sur les spectres d'ECL (cf Figure II. 60).

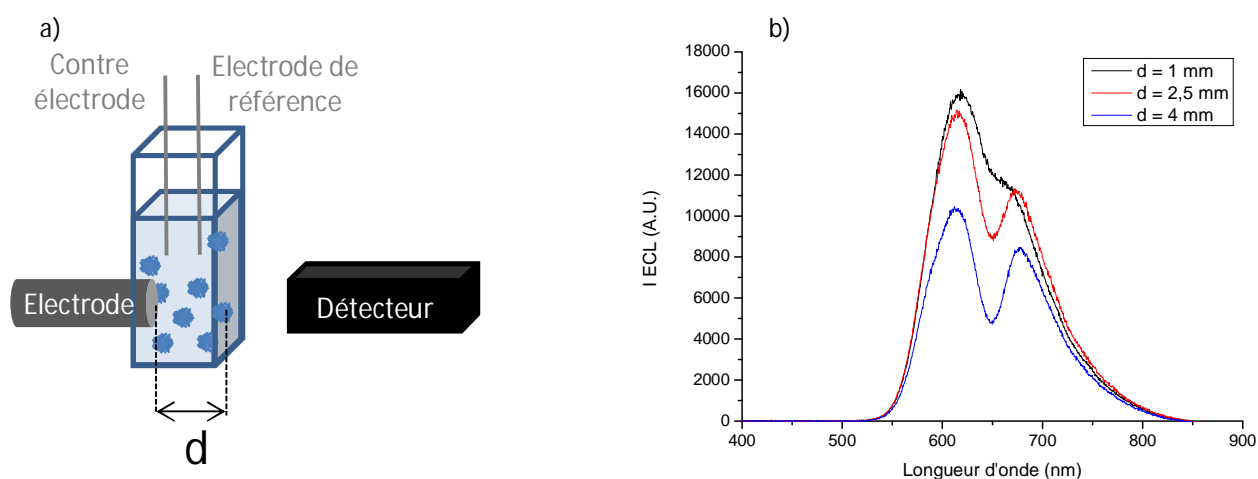


Figure II. 60 : a) Schéma du montage expérimental d'ECL et b) Spectres d'ECL enregistrés pendant les expériences de voltampérométrie cyclique à 40°C des microgels Ru6Cya30, dans un tampon phosphate 4mM pH 7,4. Pour chaque spectre la distance  $d$  est modifiée. La concentration en ruthénium est de  $1,7 \cdot 10^{-6}$  M.

Plus la distance parcourue par les photons en solution est grande, plus le signal d'ECL émis à 644 nm est absorbé. Lorsque la distance est très faible (1 mm), le spectre enregistré est très proche du spectre d'émission du ruthénium, les photons ne sont presque pas absorbés par la solution. La loi de Beer-Lambert, qui établit une proportionnalité entre l'absorbance et la distance

parcourue en solution, semble s'appliquer à notre système. Cela confirme alors l'hypothèse que le phénomène d'absorption est responsable de l'apparition de deux pics lors des expériences d'ECL.

L'absence d'émission des molécules de cyanine a donc été mise en évidence. De plus, lorsque la distance  $d$  est faible, l'intensité du pic de ruthénium est la même que celle observée avant fonctionnalisation, ce qui indique que le transfert d'énergie ne se fait pas entre les deux fluorophores. La question qui se pose à présent est : pourquoi le transfert est-il effectif lors des expériences de photoluminescence et qu'il ne l'est pas en ECL ? Pour essayer de répondre à cette question, nous listons les principales différences entre les deux techniques. La première différence est l'ajout d'un co-réactif à la solution pour générer l'ECL. Il est alors possible que ce dernier puisse réagir spontanément avec la cyanine, provoquant ainsi une modification des propriétés de fluorescence. Pour vérifier si l'ajout du DBAE a un impact sur la fluorescence des microgels, les spectres d'émission sont enregistrés avant et après l'ajout du co-réactif (cf Figure II. 61).

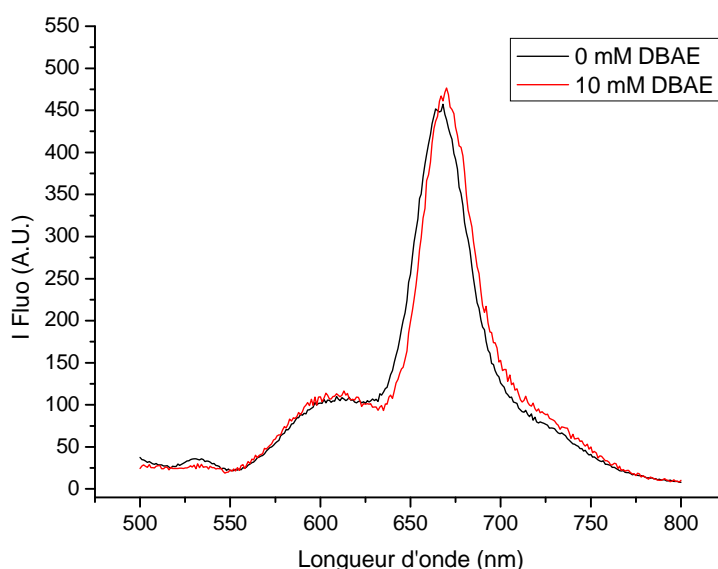


Figure II. 61 : Spectre de fluorescence ( $\lambda_{exc} = 454$  nm) de Ru6Cya30 dans un tampon phosphate 4 mM pH 7,4 sans DBAE (—) et en présence de 10 mM de DBAE (—) à 20 °C. La concentration en ruthénium est de  $1,7 \cdot 10^{-6}$  M.

Les deux spectres enregistrés sont identiques. L'ajout du co-réactif à la solution de microgels n'engendre pas de modification chimique, ni d'interaction qui impliqueraient un changement des propriétés de luminescence.

Une seconde différence entre les deux études est l'application d'un potentiel à une électrode de travail, afin d'oxyder électrochimiquement les complexes de ruthénium et le co-réactif. Cependant, il est également possible que la cyanine soit oxydée à la surface de l'électrode durant la voltampérométrie cyclique. Pour déceler si les molécules de cyanine sont électroactives dans le domaine de potentiel utilisé lors de nos expériences, des microgels en solution avant et après fonctionnalisation, ainsi qu'une solution de cya5-NHS, sont étudiés en voltampérométrie différentielle à impulsion (cf Figure II. 62). Pour cette étude, nous avons utilisé un tampon phosphate 20 mM afin que la solution soit suffisamment conductrice. Notons que dans ces conditions, les microgels sont stables à 20 °C.

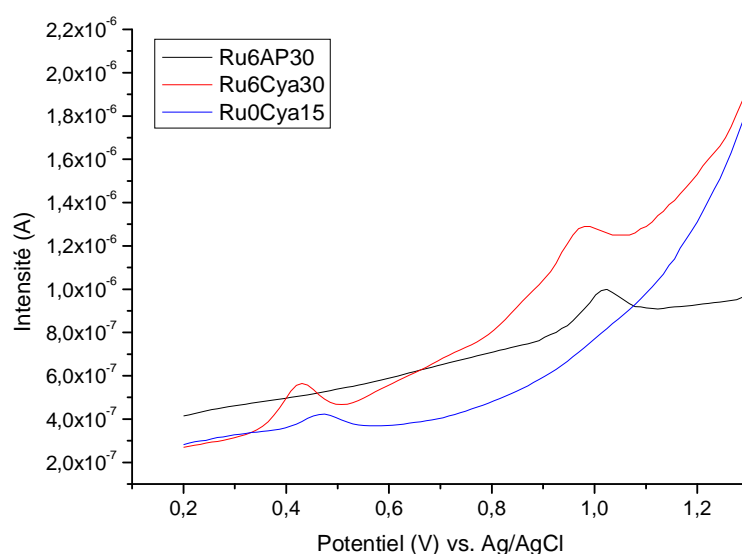


Figure II. 62 : DPV des microgels Ru6AP30 avant (—) et après fonctionnalisation (—) et des microgels Ru0Cya15 (—) dans un tampon phosphate 20 mM pH 7,4 à 25 °C. La concentration en ruthénium pour les trois échantillons est de  $10^{-4}$  M.

L'analyse des microgels Ru0Cya15 révèle la présence d'un pic d'oxydation entre 0,4 V et 0,5 V. Cette molécule est donc oxydée à la surface de l'électrode sur le domaine de potentiel de

notre étude. Les microgels fonctionnalisés contiennent deux espèces oxydables, dont le ruthénium qui réagit à 1 V. Le pic à 0,4 V peut provenir soit de l'oxydation des groupements amine introduits dans les microgels qui n'ont pas réagi lors de la fonctionnalisation, soit de l'oxydation de la cya5. L'expérience sur les microgels avant fonctionnalisation prouve que le signal à 0,4 V n'est pas provoqué par les amines, car on observe un seul pic à 1 V. Il en résulte que la cya5 est active électrochimiquement ce qui modifie ses propriétés spectroscopiques et notamment sur son absorbance comme le prouvent les résultats de la Figure II. 63.

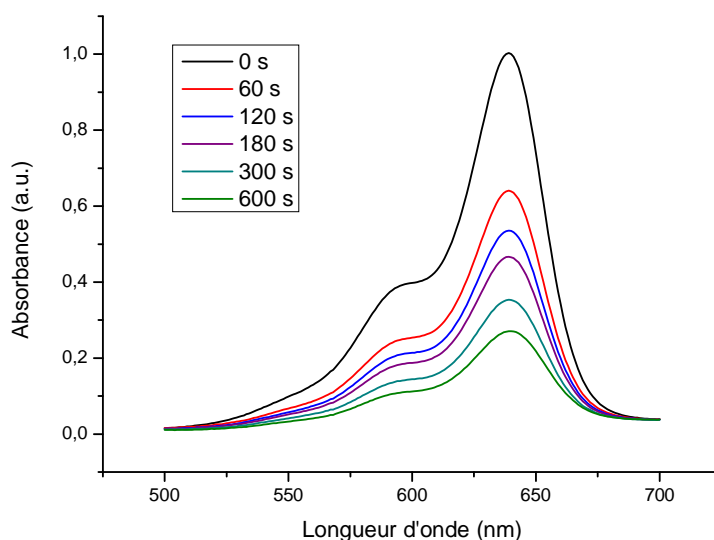


Figure II. 63 : Evolution temporelle des spectres d'absorbance d'une solution de Cya5-NHS à  $10^{-5}$  M lorsqu'un potentiel de 0,8 V est appliqué.

L'étude des microgels fonctionnalisés a révélé que le transfert d'énergie entre les complexes de ruthénium et les molécules de cya5, qui a lieu en photoluminescence, n'est pas possible en ECL. La modification chimique de l'accepteur à la surface de l'électrode semble être à l'origine du phénomène observé. Afin d'éviter ce problème, nous envisageons de modifier l'architecture de nos microgels en espérant que la matrice polymère soit capable d'isoler électrochimiquement le fluorophore de la surface de l'électrode. Par la même occasion, nous

pourrons évaluer l'impact de l'architecture des microgels sur le transfert d'énergie en photoluminescence.

### V.3. Etude de microgels cœur-écorce

La même étude que celle réalisée dans la partie précédente est effectuée sur des microgels de type cœur-écorce. Ce type de structure offre la possibilité de compartimenter les fluorophores dans la matrice polymère. L'effet de cette organisation sur le phénomène de FRET sera alors étudié et nous vérifierons que cette stratégie permet de protéger la cyanine.

#### V.3.1. Caractérisation des microgels

La synthèse de microgels cœur-écorce s'effectue en deux étapes. Le cœur est synthétisé dans un premier temps de la même manière que les microgels ayant une architecture simple et sont ensuite purifiés. Lors de la seconde étape, l'écorce est synthétisée autour des cœurs en solution. Ce protocole offre l'opportunité de préparer des microgels dont la structure chimique du cœur et de l'écorce est différente. Notre objectif est de préparer des microgels dont le cœur contient les cyanines, afin d'essayer de les isoler de l'électrode et dont l'écorce est constituée des complexes de ruthénium. Ainsi les complexes de ruthénium restent accessibles électrochimiquement afin de générer le signal ECL.

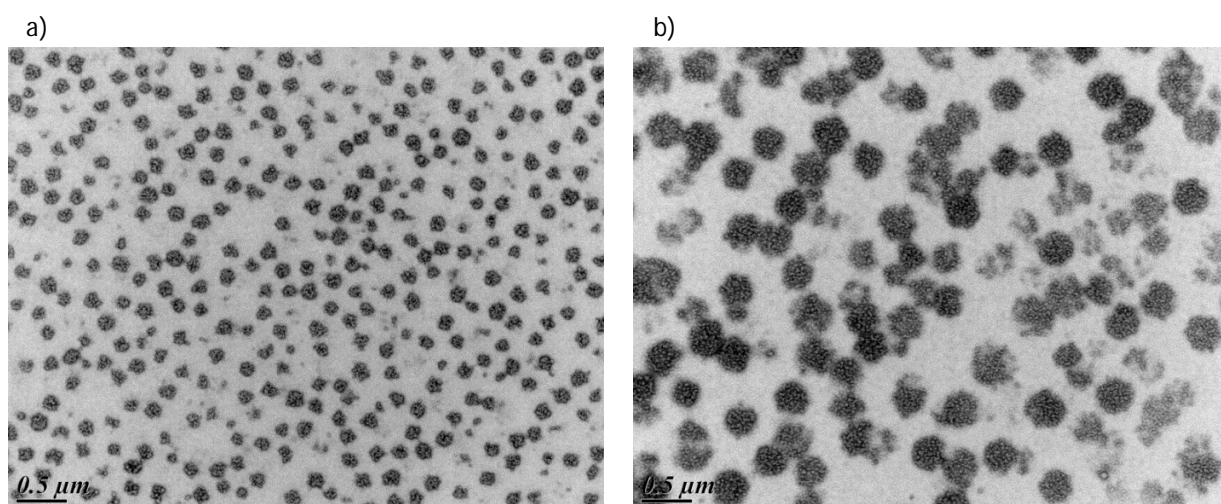


Figure II. 64 : Cliché TEM a) des cœurs AP15 et b) des microgels AP15@Ru15.



La première étape, permet l'obtention de cœurs dont la taille et la structure sont homogènes comme en attestent les images de microscopie électronique à transmission (Figure II. 64). Après la seconde étape, le diamètre des microgels avant la transition de phase a plus que doublé tout en conservant une distribution de taille homogène (Figure II. 65), ce qui constitue une preuve de l'ajout d'une écorce qui enrobe les cœurs. L'évolution du comportement des microgels en fonction de la température est étudiée avant et après la synthèse de l'écorce. Dans les deux cas, la température de transition de phase est identique, car chaque compartiment est composé du même monomère thermosensible. Les microgels cœur-écorce possèdent donc une seule transition de phase qui a lieu sur un domaine de température plus étendu que celui des microgels d'architecture simple.

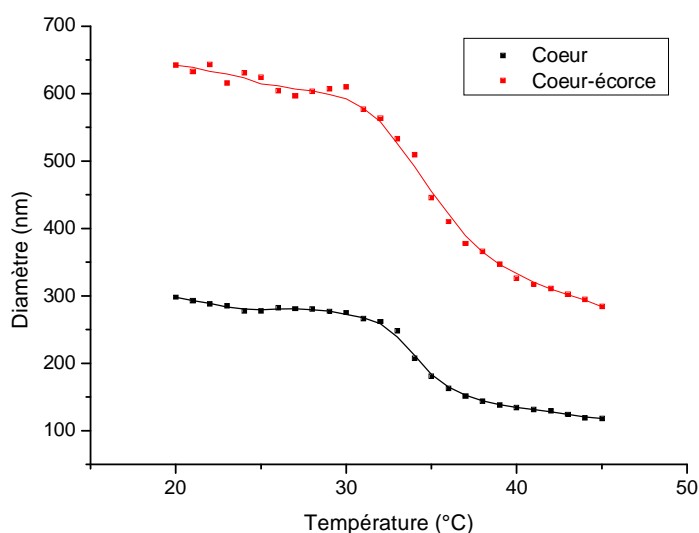


Figure II. 65 : Evolution du diamètre hydrodynamique des cœurs (■) et des microgels cœur-écorce (■) en fonction de la température dans une solution tampon phosphate 4 mM pH 7,4.

Après caractérisation les microgels sont fonctionnalisés avec la Cya5-NHS suivant le même protocole que celui utilisé précédemment. Les propriétés de luminescence de ces microgels seront également étudiées dans un tampon phosphate 4 mM à pH 7,4. Dans ces conditions les microgels sont stables sur le domaine de température d'étude.

### V.3.2. Etude du transfert d'énergie en photoluminescence

Avant d'étudier le phénomène de FRET des microgels cœur-écorce nous avons vérifié que la contraction des microgels n'a pas d'impact sur les propriétés de fluorescence de chacun des fluorophores. Comme dans la majorité des microgels étudiés précédemment, on observe une diminution de l'intensité de fluorescence lorsque la température augmente et la contraction n'a pas d'influence particulière. L'étude du transfert d'énergie a donc été réalisée en enregistrant les spectres de photoluminescence à différentes températures, lorsque les complexes de ruthénium sont excités. L'évolution du ratio des intensités de fluorescence de chaque fluorophore est également tracée et comparée au comportement de gonflement des microgels cœur-écorce (Figure II. 66).

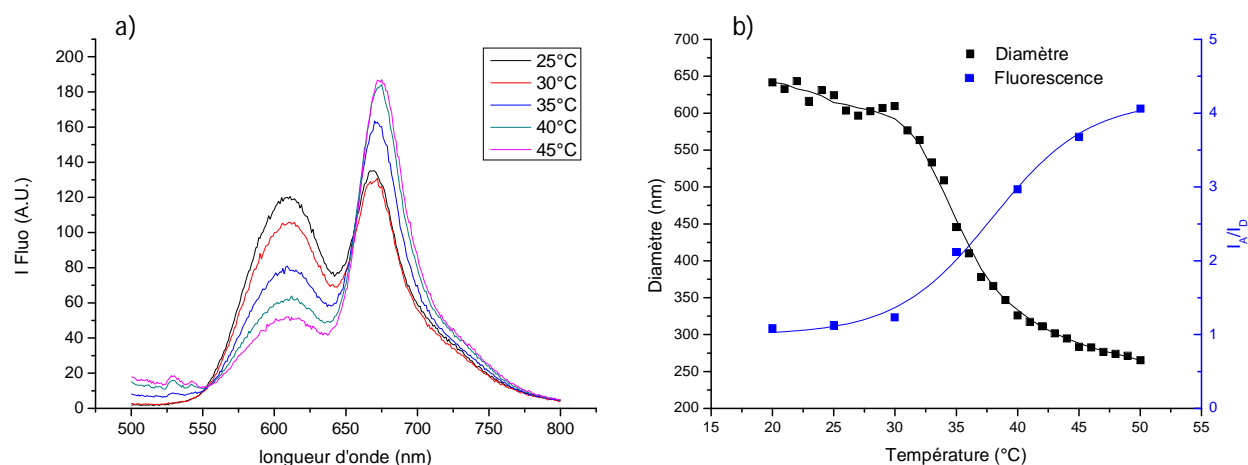


Figure II. 66 : a) Spectres de fluorescence ( $\lambda_{exc} = 454$  nm) à différentes températures des microgels AP15@Ru15 fonctionnalisés avec la Cya5 dans un tampon phosphate 4 mM pH 7,4. b) Evolution du diamètre hydrodynamique des microgels cœur-écorce (■) et du rapport de l'intensité de fluorescence accepteur sur donneur ( $\lambda_{exc} = 454$  nm) des microgels cœur-écorce fonctionnalisés (■) en fonction de la température dans un tampon phosphate 4 mM pH 7,4.

Sur les spectres enregistrés, on observe l'émission des deux fluorophores sur tout le domaine de température étudié. Le transfert d'énergie est donc effectif, même lorsque les microgels sont gonflés et malgré le fait que les molécules fluorescentes ne soient pas localisées dans le même compartiment. On constate également que le ratio des intensités à 20 °C est égal au ratio des % molaires des fluorophores incorporés, comme nous l'avons déjà observé avec les

microgels qui n'ont pas de structure interne particulière. Avant 30 °C, le ratio des intensités est constant et le diamètre des microgels évolue peu. Au-delà de cette température, lorsque les microgels se contractent, le ratio des intensités est exalté puis se stabilise après la transition de phase volumique. Pour cet échantillon, la contraction des microgels est également à l'origine de l'exaltation de l'efficacité du transfert d'énergie. Le rapport des intensités de fluorescence est 4 fois plus grand après la contraction des microgels. L'augmentation de la température a plus d'effet que précédemment.

Le phénomène de transfert d'énergie est également possible au sein de microgels cœur-écorce, où le donneur et l'accepteur se trouvent respectivement dans l'écorce et dans le cœur. L'amplification de l'efficacité du transfert d'énergie observée lors de la contraction des microgels est plus grande avec ce type de particules. Ces premières études ne permettent pas de conclure que cette différence d'amplification est liée à la structure des microgels.

### V.3.3. Etude des propriétés d'ECL

Les microgels cœur-écorce sont également étudiés en ECL, en espérant que les molécules de cyanine soient suffisamment protégées pour que le phénomène d'ECRET puisse avoir lieu. Les conditions d'analyse sont identiques à celles utilisées pour les microgels d'architecture « simple ».

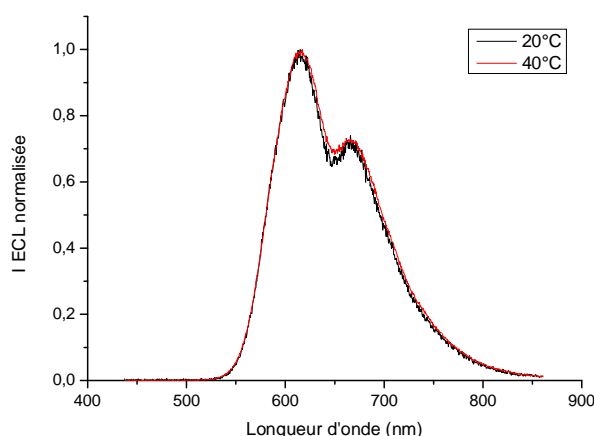


Figure II. 67 : Spectre enregistré pendant les expériences de voltampérométrie cyclique à 20°C (—) et à 40°C (—) des microgels cœur-écorce fonctionnalisés dans un tampon phosphate 4mM pH 7,4 avec 10 mM DBAE.

Comme pour les échantillons précédents, l'intensité du signal ECL est plus grande à 40 °C qu'à 20 °C, ce qui prouve que la contraction des microgels cœur-écorce est également à l'origine d'une exaltation du signal. Dans le but de comparer le ratio des intensités émises à 610 nm et à 670 nm les valeurs sont normalisées. Elles sont tracées en fonction de la longueur d'onde pour les deux températures Figure II. 67. Les spectres normalisés enregistrés aux deux températures se superposent, ce qui indique que le ratio des intensités n'évolue pas avec la température. D'après l'étude précédente sur les microgels non structurés, nous pouvons en conclure que le pic observé à 670 nm n'est pas dû à l'émission de l'accepteur, mais à la convolution du spectre d'émission du ruthénium et du spectre d'absorption de la cyanine. Il n'y a donc pas de transfert d'énergie entre les deux fluorophores. Afin de vérifier si l'oxydation du fluorophore est une nouvelle fois mise en cause, l'échantillon est analysé par voltampérométrie différentielle à impulsion (Figure II. 68).

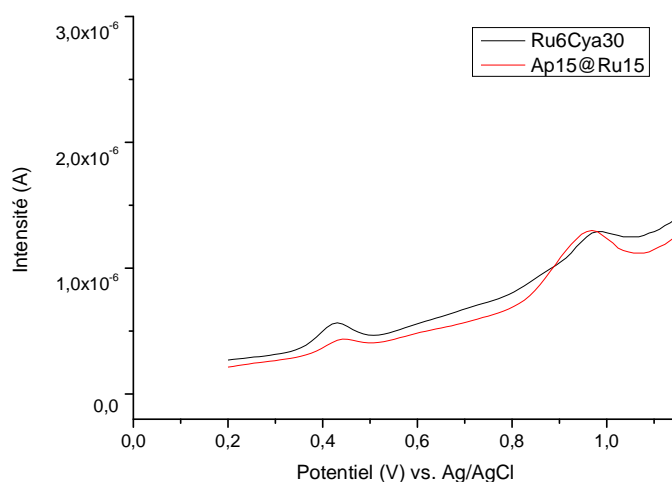


Figure II. 68 : DPV à 20°C des microgels Ru6Cya30 (—) et des microgels AP15@Ru15 (—) dans un tampon phosphate 20 mM pH 7,4.

L'analyse révèle la présence de deux pics d'oxydation qui sont similaires à ceux observés avec l'échantillon Ru6Cya30. L'ajout d'une écorce de polymère autour des cœurs ne permet pas de protéger la cyanine de l'oxydation. L'étude du transfert d'énergie initié par ECL n'est donc pas possible avec ce type de microgels cœur-écorce.

## Conclusion

Au terme de ces études, nous avons préparé des microgels thermosensibles adressables électrochimiquement et capables d'émettre un signal ECL. La particularité de ces systèmes réside dans l'amplification du signal ECL lors de la contraction des microgels, alors que les propriétés de photoluminescence ne sont pas affectées.

L'étude préliminaire des microgels luminescents sensibles aux sucres a révélé des propriétés de photoluminescence intéressantes en fonction de la concentration en fructose. Une étude plus approfondie sera réalisée afin de confirmer les résultats obtenus. En revanche, l'étude en ECL de ces mêmes microgels ne montre aucune évolution du signal émis lors d'ajout de fructose. L'enjeu est à présent de comprendre les raisons pour lesquelles nous n'observons aucune évolution du signal émis et de trouver des solutions.

La modification des propriétés de luminescence par transfert d'énergie a pu être observée uniquement lors des expériences de photoluminescence. En ECL, l'accepteur ne semble plus capable de recevoir l'énergie du donneur. L'oxydation des molécules de cyanine à la surface de l'électrode est peut être une des raisons pour lesquelles le transfert d'énergie n'est pas effectif. Notre tentative de protection de l'accepteur de l'oxydation par une écorce de polymère n'a pas été efficace. La poursuite de ces travaux peut se faire selon trois voies :

- Soit de placer l'accepteur dans une matrice non thermosensible mais bien plus protectrice que le NIPAM comme le polystyrène
- Soit de travailler avec une cyanine symétrique qui, d'après une étude récente menée au laboratoire, semble plus stable vis-à-vis de l'oxydation que celle utilisée dans notre étude.
- Soit sélectionner un nouvel accepteur capable d'échanger de l'énergie avec le complexe de ruthénium comme le bleu de Nil.

## Références :

- (1) Hendrickson, G. R.; Andrew Lyon, L. *Soft Matter* **2009**, 5, 29-35.
- (2) Sui, Z.; King, W. J.; Murphy, W. L. *Advanced Materials* **2007**, 19, 3377-3380.
- (3) Yin, J.; Li, C.; Wang, D.; Liu, S. *The Journal of Physical Chemistry B* **2010**, 114, 12213-12220.
- (4) Ward Muscatello, M. M.; Stunja, L. E.; Asher, S. A. *Analytical Chemistry* **2009**, 81, 4978-4986.
- (5) Tierney, S.; Falch, B. M. H.; Hjelme, D. R.; Stokke, B. T. *Analytical Chemistry* **2009**, 81, 3630-3636.
- (6) Hu, Y.; Jiang, X.; Zhang, L.; Fan, J.; Wu, W. *Biosensors and Bioelectronics* **2013**, 48, 94-99.
- (7) Ancla, C.; Lapeyre, V.; Gosse, I.; Catargi, B.; Ravaine, V. *Langmuir* **2011**, 27, 12693-12701.
- (8) Miyata, T.; Asami, N.; Uragami, T. *Nature* **1999**, 399, 766-769.
- (9) Gota, C.; Okabe, K.; Funatsu, T.; Harada, Y.; Uchiyama, S. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, 131, 2766-2767.
- (10) Wang, D.; Liu, T.; Yin, J.; Liu, S. *Macromolecules* **2011**, 44, 2282-2290.
- (11) Wu, W.; Zhou, T.; Shen, J.; Zhou, S. *Chemical Communications* **2009**, 4390-4392.
- (12) Sui, X.; Feng, X.; Hempenius, M. A.; Vancso, G. J. *Journal of Materials Chemistry B* **2013**, 1, 1658-1672.
- (13) Puzzo, D. P.; Arsenault, A. C.; Manners, I.; Ozin, G. A. *Angewandte Chemie International Edition* **2009**, 48, 943-947.
- (14) Hempenius, M. A.; Cirimi, C.; Savio, F. L.; Song, J.; Vancso, G. J. *Macromolecular Rapid Communications* **2010**, 31, 772-783.
- (15) Nakahata, M.; Takashima, Y.; Yamaguchi, H.; Harada, A. *Nat Commun* **2011**, 2, 511.
- (16) Sui, X.; van Ingen, L.; Hempenius, M. A.; Vancso, G. J. *Macromolecular Rapid Communications* **2010**, 31, 2059-2063.
- (17) Bocharova, V.; Tam, T. K.; Halamek, J.; Pita, M.; Katz, E. *Chemical Communications* **2010**, 46, 2088-2090.
- (18) Miao, W. *Chemical Reviews* **2008**, 108, 2506-2553.
- (19) Richter, M. M. *Chemical Reviews* **2004**, 104, 3003-3036.
- (20) Bertonecello, P.; Forster, R. J. *Biosensors and Bioelectronics* **2009**, 24, 3191-3200.
- (21) Harvey, N. *The Journal of Physical Chemistry* **1928**, 33, 1456-1459.
- (22) Dufford, R. T.; Nightingale, D.; Gaddum, L. W. *Journal of the American Chemical Society* **1927**, 49, 1858-1864.
- (23) Hercules, D. M. *Science* **1964**, 145, 808.
- (24) Santhanam, K. S. V.; Bard, A. J. *Journal of the American Chemical Society* **1965**, 87, 139-140.
- (25) Tokel, N. E.; Bard, A. J. *Journal of the American Chemical Society* **1972**, 94, 2862-2863.
- (26) Chang, M.-M.; Saji, T.; Bard, A. J. *Journal of the American Chemical Society* **1977**, 99, 5399-5403.
- (27) Leland, J. K.; Powell, M. J. *Journal of The Electrochemical Society* **1990**, 137, 3127-3131.
- (28) Noffsinger, J. B.; Danielson, N. D. *Analytical Chemistry* **1987**, 59, 865-868.
- (29) Blackburn, G. F.; Shah, H. P.; Kenten, J. H.; Leland, J.; Kamin, R. A.; Link, J.; Peterman, J.; Powell, M. J.; Shah, A.; Talley, D. B. *Clinical Chemistry* **1991**, 37, 1534-1539.
- (30) <http://www.meso-scale.com>.
- (31) <http://www.roche.com>.

- (32) Cynthia, W. M. a. G. Z. *Handbook of Electrochemistry*; Elsevier, Amsterdam, 2007.
- (33) Rubinstein, I.; Bard, A. J. *Journal of the American Chemical Society* **1981**, *103*, 5007-5013.
- (34) Rubinstein, I.; Bard, A. J. *Journal of the American Chemical Society* **1981**, *103*, 512-516.
- (35) Rubinstein, I.; Martin, C. R.; Bard, A. J. *Analytical Chemistry* **1983**, *55*, 1580-1582.
- (36) Kanoufi, F.; Bard, A. J. *The Journal of Physical Chemistry B* **1999**, *103*, 10469-10480.
- (37) Kanoufi, F.; Cannes, C.; Zu, Y.; Bard, A. J. *The Journal of Physical Chemistry B* **2001**, *105*, 8951-8962.
- (38) Zu, Y.; Bard, A. J. *Analytical Chemistry* **2000**, *72*, 3223-3232.
- (39) Kanoufi, F.; Zu, Y.; Bard, A. J. *The Journal of Physical Chemistry B* **2000**, *105*, 210-216.
- (40) Miao, W.; Choi, J.-P.; Bard, A. J. *Journal of the American Chemical Society* **2002**, *124*, 14478-14485.
- (41) Factor, B.; Muegge, B.; Workman, S.; Bolton, E.; Bos, J.; Richter, M. M. *Analytical Chemistry* **2001**, *73*, 4621-4624.
- (42) Workman, S.; Richter, M. M. *Analytical Chemistry* **2000**, *72*, 5556-5561.
- (43) Chen, Z.; Zu, Y. *The Journal of Physical Chemistry C* **2009**, *113*, 21877-21882.
- (44) Zu, Y.; Bard, A. J. *Analytical Chemistry* **2001**, *73*, 3960-3964.
- (45) Liu, X.; Shi, L.; Niu, W.; Li, H.; Xu, G. *Angewandte Chemie International Edition* **2007**, *46*, 421-424.
- (46) Miao, W.; Bard, A. J. *Analytical Chemistry* **2004**, *76*, 5379-5386.
- (47) Sardesai, N. P.; Barron, J. C.; Rusling, J. F. *Analytical Chemistry* **2011**, *83*, 6698-6703.
- (48) Miao, W.; Bard, A. J. *Analytical Chemistry* **2004**, *76*, 7109-7113.
- (49) Sentic, M.; Loget, G.; Manojlovic, D.; Kuhn, A.; Sojic, N. *Angewandte Chemie International Edition* **2012**, *51*, 11284-11288.
- (50) Suzuki, D.; Yoshida, R. *Macromolecules* **2008**, *41*, 5830-5838.
- (51) Suzuki, D.; Yoshida, R. *The Journal of Physical Chemistry B* **2008**, *112*, 12618-12624.
- (52) Suzuki, D.; Taniguchi, H.; Yoshida, R. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131*, 12058-12059.
- (53) Taniguchi, H.; Suzuki, D.; Yoshida, R. *The Journal of Physical Chemistry B* **2010**, *114*, 2405-2410.
- (54) Ito, S. *KOBUNSHI RONBUNSHU* **1989**, *46*, 437-443.
- (55) Iwai, K.; Matsumoto, N.; Niki, M.; Yamamoto, M. *Molecular Crystals and Liquid Crystals Science and Technology. Section A. Molecular Crystals and Liquid Crystals* **1998**, *315*, 53-58.
- (56) Abruna, H. D.; Breikss, A. I.; Collum, D. B. *Inorganic Chemistry* **1985**, *24*, 987-988.
- (57) Pardin, C.; Gillet, S. M. F. G.; Keillor, J. W. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2006**, *14*, 8379-8385.
- (58) Lavastre, O.; Floner, D.; Geneste, F.; Google Patents, 2007.
- (59) Wu, X.; Pelton, R. H.; Hamielec, A. E.; Woods, D. R.; McPhee, W. *Colloid Polym Sci* **1994**, *272*, 467-477.
- (60) Iwai, K.; Matsumura, Y.; Uchiyama, S.; de Silva, A. P. *Journal of Materials Chemistry* **2005**, *15*, 2796-2800.
- (61) Juris, A.; Balzani, V.; Barigelletti, F.; Campagna, S.; Belser, P.; von Zelewsky, A. *Coordination Chemistry Reviews* **1988**, *84*, 85-277.
- (62) Bowen, E. J.; Sahu, J. *The Journal of Physical Chemistry* **1959**, *63*, 4-7.
- (63) Gonzalez-Velasco, J. *The Journal of Physical Chemistry* **1988**, *92*, 2202-2207.
- (64) Matsumura, Y.; Iwai, K. *Polymer* **2005**, *46*, 10027-10034.

- (65) Uchiyama, S.; Matsumura, Y.; de Silva, A. P.; Iwai, K. *Analytical Chemistry* **2003**, *75*, 5926-5935.
- (66) Zanarini, S.; Rampazzo, E.; Ciana, L. D.; Marcaccio, M.; Marzocchi, E.; Montalti, M.; Paolucci, F.; Prodi, L. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131*, 2260-2267.
- (67) Astruc, D. *New Journal of Chemistry* **2011**, *35*, 764-772.
- (68) Rifkin, S. C.; Evans, D. H. *Analytical Chemistry* **1976**, *48*, 2174-2179.
- (69) Pelzer, J.; Scholz, F.; Henrion, G.; Nitschke, L. *Electroanalysis* **1989**, *1*, 437-440.
- (70) Zhang, W.; Gaberman, I.; Ciszowska, M. *Analytical Chemistry* **2002**, *74*, 1343-1348.
- (71) Heller, A. *Current Opinion in Chemical Biology* **2006**, *10*, 664-672.
- (72) Fiaccabrino, G. C.; Koudelka-Hep, M.; Hsueh, Y.-T.; Collins, S. D.; Smith, R. L. *Analytical Chemistry* **1998**, *70*, 4157-4161.
- (73) Springsteen, G.; Wang, B. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 5291-5300.
- (74) Lapeyre, V.; Gosse, I.; Chevreux, S.; Ravaine, V. *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 3356-3363.
- (75) Kataoka, K.; Miyazaki, H.; Bunya, M.; Okano, T.; Sakurai, Y. *Journal of the American Chemical Society* **1998**, *120*, 12694-12695.
- (76) Matsumoto, A.; Yoshida, R.; Kataoka, K. *Biomacromolecules* **2004**, *5*, 1038-1045.
- (77) Förster, T. *Annalen der Physik* **1948**, *437*, 55-75.
- (78) Li, C.; Hu, J.; Liu, S. *Soft Matter* **2012**, *8*, 7096-7102.
- (79) Sapsford, K. E.; Berti, L.; Medintz, I. L. *Angewandte Chemie International Edition* **2006**, *45*, 4562-4589.
- (80) Jares-Erijman, E. A.; Jovin, T. M. *Nat Biotech* **2003**, *21*, 1387-1395.
- (81) Li, M.; Li, J.; Sun, L.; Zhang, X.; Jin, W. *Electrochimica Acta* **2012**, *80*, 171-179.
- (82) Li, L.; Li, M.; Sun, Y.; Li, J.; Sun, L.; Zou, G.; Zhang, X.; Jin, W. *Chemical Communications* **2011**, *47*, 8292-8294.
- (83) Li, L.; Hu, X.; Sun, Y.; Zhang, X.; Jin, W. *Electrochemistry Communications* **2011**, *13*, 1174-1177.
- (84) Hu, X.; Zhang, X.; Jin, W. *Electrochimica Acta* **2013**, *94*, 367-373.
- (85) Wu, M.-S.; Shi, H.-W.; Xu, J.-J.; Chen, H.-Y. *Chemical Communications* **2011**, *47*, 7752-7754.
- (86) Valenti, G.; Rampazzo, E.; Bonacchi, S.; Khajvand, T.; Juris, R.; Montalti, M.; Marcaccio, M.; Paolucci, F.; Prodi, L. *Chemical Communications* **2012**, *48*, 4187-4189.
- (87) Descalzo, A. B.; Somoza, C.; Moreno-Bondi, M. C.; Orellana, G. *Analytical Chemistry* **2013**, *85*, 5316-5320.
- (88) Jones, C. D.; McGrath, J. G.; Lyon, L. A. *The Journal of Physical Chemistry B* **2004**, *108*, 12652-12657.





# **Chapitre III :**

## **Etude du comportement des microgels aux interfaces liquides**

---

## Introduction au chapitre

Les émulsions sont des mélanges métastables de deux liquides non miscibles, d'aspect macroscopiquement homogène. Elles résultent de la dispersion sous forme de gouttes sphériques, de diamètre variant de 0,1 à quelques dizaines de micromètres, de l'un des liquides (appelé phase dispersée) dans le second (appelé phase continue). Il y a plus d'un siècle, Ramsden et Pickering ont démontré l'aptitude de particules colloïdales à stabiliser durablement des émulsions.<sup>1,2</sup> Grâce à la microscopie optique, Pickering observe l'adsorption des particules et relève le caractère rigide des interfaces. Cette étude pionnière est à l'origine de la terminologie actuellement utilisée pour désigner ces matériaux : les émulsions de Pickering. Il établit également que la stabilisation d'émulsions par des particules n'est possible que si ces dernières sont partiellement mouillées par la phase dispersée et par la phase continue. Depuis une vingtaine d'années, sous l'impulsion de plusieurs équipes, ces émulsions ont connu un regain d'intérêt, notamment lorsqu'elles sont stabilisées par des microgels déformables et stimulables. De nombreux travaux ont montré que les émulsions stabilisées par ce type de particules présentaient une grande sensibilité à des stimuli, comme le pH ou la température, de sorte que ces systèmes sont très prometteurs pour relever les défis de la formulation.<sup>3-5</sup> La majorité de ces études est réalisée avec des microgels de poly(NIPAM) qui sont des matériaux thermosensibles dont la structure a été largement étudiée. Les travaux entrepris jusqu'à présent ont permis de démontrer leur capacité à stabiliser des émulsions ainsi que de les détruire sur demande. A l'heure actuelle, les mécanismes qui régissent ce comportement ne sont pas totalement élucidés et des zones d'ombre persistent, notamment sur les causes de l'impact du taux de réticulation sur la stabilité des émulsions, ainsi que sur l'évolution et l'importance des propriétés mécaniques des microgels à l'interface.

L'objectif de cette étude est d'étudier les propriétés d'adsorption des microgels à une interface plane. Nous souhaitons notamment étudier la déformation des microgels dans le but d'établir un lien entre leur conformation et les propriétés mécaniques de l'interface. L'enjeu est donc de comprendre l'impact de la déformabilité des microgels sur la stabilisation des émulsions et de pouvoir comparer leur adsorption aux particules solides et aux polymères linéaires, compte tenu de la dualité des microgels entre ces deux états. Pour ce faire nous avons étudié, en premier lieu,

les changements de conformation lorsque les microgels sont adsorbés à une interface plane et soumis à une compression forcée. Plusieurs échantillons, avec des taux de réticulation différents, seront analysés par cette technique. L'impact de la réticulation sera également étudié sur l'adsorption spontanée des microgels par la technique de la goutte pendante. Enfin les propriétés d'élasticité dilatationnelle seront également comparées pour les différents échantillons en fonction de leur conformation à l'interface. Afin de comprendre le contexte de cette étude, il est nécessaire de donner quelques notions sur les émulsions stabilisées par des particules solides et de dresser un état des lieux sur les connaissances concernant les émulsions stabilisées par des microgels, et plus particulièrement ceux à base de poly(NIPAM).

## I. Contexte de l'étude

### I.1. Emulsions stabilisées par des particules solides

Ces émulsions, appelées émulsions de Pickering, sont stabilisées par des particules partiellement mouillées par l'eau et par l'huile. Pour les émulsions stabilisées par des tensioactifs, la loi empirique de Bancroft permet de prévoir le type d'émulsion (directe ou indirecte) en fonction de la balance hydrophile-lipophile (HLB) du tensioactif utilisé.<sup>6</sup> Dans le cas des émulsions stabilisées par des particules colloïdales, Finkle *et al.* ont été les premiers à établir une relation entre la nature des particules colloïdales et le type d'émulsion obtenue.<sup>7</sup> Ces travaux ont permis de conclure que dans une émulsion de Pickering, la phase qui mouille préférentiellement les particules solides est la phase continue. Afin de quantifier le mouillage des particules, la notion d'angle de contact est importante (cf Figure III. 1).

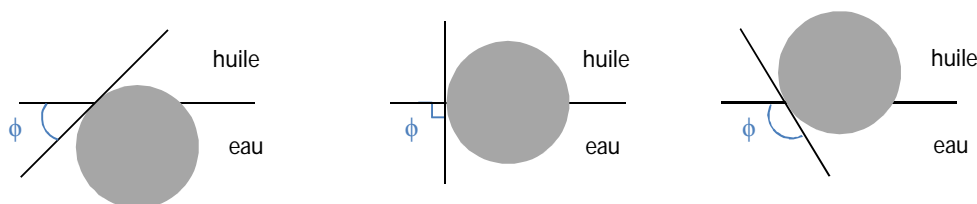


Figure III. 1 : Schéma illustratif des angles de contact d'une particule adsorbée sur une interface eau/huile plane pour un angle de contact  $\Theta$  inférieur à  $90^\circ$  (à gauche), égal à  $90^\circ$  (au centre) et supérieur à  $90^\circ$  (à droite)

Schylman et Leja ont alors montré que :<sup>8</sup>

- si  $\phi < 90^\circ$  les particules stabilisent des émulsions directes
- si  $\phi > 90^\circ$  les particules stabilisent des émulsions indirectes

L'angle de contact  $\phi$  formé par la particule à cette interface est donc important. Comparé aux émulsions classiques stabilisées par des tensioactifs, un aspect remarquable est l'ancrage irréversible des particules. On peut calculer l'énergie d'ancrage d'une particule de rayon  $r$  à l'interface eau-huile. C'est la différence d'énergie entre l'interface nue et l'interface recouverte de la particule. En d'autres termes c'est la variation d'énergie de surface lorsqu'on remplace l'interface  $\alpha\beta$  par deux interfaces solide-liquide  $\alpha$  et solide-liquide  $\beta$  (cf Figure III. 2). Cette énergie vaut :

$$\Delta E = E_{interface\ nue} - E_{interface + particule} = \gamma_{\alpha\beta}\pi r^2(1 - \cos\Theta)^2 \quad (1)$$

où  $\gamma_{\alpha\beta}$  est la tension de surface interfaciale entre  $\alpha$  et  $\beta$ . Une application numérique avec les données suivantes :  $r = 10$  nm,  $\gamma_{\alpha\beta} = 50$  mN/m et  $\Theta = 90^\circ$  permet de montrer que l'énergie d'ancrage vaut plusieurs milliers de kT (énergie thermique), alors que l'énergie d'ancrage d'un tensioactif vaut kT. Alors qu'il est aisé de désorber un tensioactif puisqu'il existe des échanges entre les tensioactifs adsorbés à l'interface et ceux dissouts en solution, les particules sont quant à elles ancrées de façon irréversible.

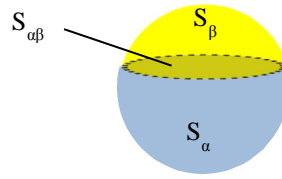


Figure III. 2 : Schéma représentatif des surfaces nécessaires au calcul de l'énergie d'ancrage

Cette particularité a pour conséquence que les émulsions de Pickering peuvent subir le phénomène de coalescence limitée. La destruction des émulsions se produit par coalescence des gouttes entre elles. La coalescence limitée ne conduit pas à la destruction totale de l'émulsion. C'est une coalescence provoquée entre des gouttes insuffisamment protégées par les particules, qui vont coalescer afin de réduire la quantité d'interface. Ce phénomène s'arrête lorsque l'interface est suffisamment couverte. Le principe consiste à fabriquer des émulsions de Pickering dans un régime pauvre en particules. L'émulsification provoque alors la création d'une grande quantité d'interface. Toutes les particules sont adsorbées à l'interface mais les gouttes sont insuffisamment protégées (cf Figure III. 3). Elles coalescent entre elles de façon équiprobable, réduisant l'aire de l'interface par une augmentation du diamètre des gouttes. L'adsorption des particules étant irréversible, la diminution de l'aire d'interface provoque une augmentation de la densité de particules. La coalescence s'arrête lorsque les gouttes sont suffisamment protégées.

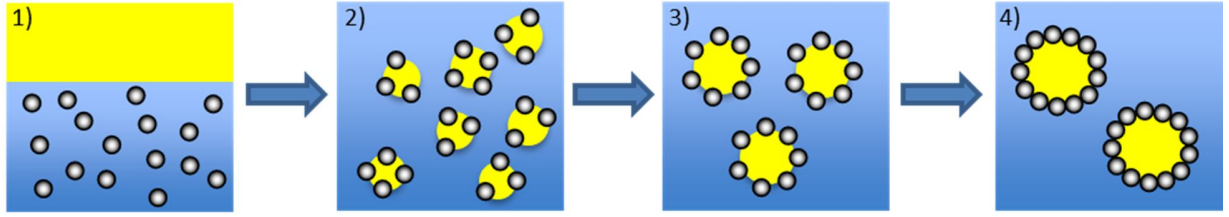


Figure III. 3 : Schéma représentatif du phénomène de coalescence limitée. 1) Les particules sont dispersées dans la phase aqueuse. 2) Après émulsification, les particules sont adsorbées à l'interface eau-huile mais ne recouvrent pas l'intégralité de la surface créée : les gouttes d'huile coalescent. 3) Les petites gouttes d'huile disparaissent au profit de grosses gouttes jusqu'à ce que les particules soient en contact 4). Dans cette configuration les émulsions sont stables sur de très longues durées.

A l'issue de la coalescence limitée, le diamètre des gouttes est donc proportionnel à la quantité de particules introduites initialement. La relation entre le diamètre des gouttes finales ( $D_f$ ) et la masse de particules ( $m_p$ ) est donnée par :

$$D_f = \frac{6 V_d}{m_p S_f} \quad (2)$$

Où  $V_d$  est le volume de la phase dispersée et  $S_f$  la surface de goutte pouvant être stabilisée par 1 g de particules. On définit le taux de couverture  $C$  comme le rapport entre la surface couverte par les particules et la surface des gouttes.

$$C = \frac{S_{eq}}{m_p S_f} = \frac{N_p \left(\frac{d_p}{2}\right)^2}{m_p S_f} = \frac{3}{2} \frac{m_p}{d_p \rho_p S_f} \quad (3)$$

avec  $N_p$  le nombre de particules,  $d_p$  leur diamètre et  $\rho_p$  leur masse volumique. En remplaçant dans l'équation (1) il vient alors :

$$\frac{1}{D_f} = \frac{S_{eq}}{6 V_d C} = \frac{m_p}{4 C \rho_p d_p V_d} \quad (4)$$

Il est alors possible de déduire le taux de couverture qui reflète l'organisation des particules à l'interface eau-huile. Pour des particules solides sphériques organisées en monocouche formant un réseau hexagonal compact,  $C$  vaut 0,9. Si  $C$  est supérieur à cette valeur, les particules forment des multicouches ou des agrégats. Pour des valeurs de  $C$  inférieures à 0,9, les particules forment un réseau peu dense.

## I.2. Emulsions stabilisées par des microgels

Les premiers travaux concernant des émulsions stabilisées par des microgels remontent à 2005, lorsque Ngai *et al.* ont montré qu'il était possible d'obtenir des émulsions stabilisées par des microgels sensibles au pH, qui se déstabilisent en fonction du pH.<sup>9</sup> Depuis, de nombreux travaux ont cherché à établir un lien entre l'état de gonflement des microgels, leur structure, leur déformabilité et la stabilité des émulsions.

Les travaux initiaux réalisés entre 2005 et 2008 ont permis de mettre en évidence la complexité de cette problématique à travers des contradictions apparentes sur deux points :

- tandis que Ngai *et al.* mettaient en évidence la nécessité que les microgels soient dans un état gonflé pour assurer la stabilisation des émulsions,<sup>9,10</sup> Fuji *et al.* montraient au contraire un système où la stabilité était assurée dans l'état contracté des microgels.<sup>11,12</sup>
- l'importance des charges était également soumise à controverse. L'équipe de Richtering montrait la nécessité d'utiliser des microgels chargés de type poly(NIPAM-co-MAA) pour stabiliser des émulsions,<sup>13</sup> tandis que l'équipe de Kawaguchi utilisait des microgels de poly(NIPAM) sans co-monomère, prouvant ainsi que ce paramètre n'était pas déterminant.<sup>14</sup>

La seule certitude à l'issue de ces travaux préliminaires est que les microgels s'adsorbent à l'interface eau-huile, ce qui avait été montré par Pelton en 1999 par des études de tension de surface dynamique à l'interface eau-air.<sup>15,16</sup> Plusieurs équipes ont alors cherché à identifier les mécanismes à l'origine de la stabilisation des émulsions et ont exploré différents paramètres :

- le lien entre tension interfaciale et stabilité
- les propriétés mécaniques des interfaces stabilisées par des microgels
- le lien entre déformabilité des microgels et la stabilité, via l'étude de l'organisation des microgels à l'interface eau-huile.

### I.2.1. Tension de surface des interfaces couvertes de microgels

Les premières études ont démontré que les microgels ont la capacité de s'adsorber à une interface. Grâce à leur étude théorique, Vilgis et Stapper ont démontré que les gels moins



réticulés assurent une meilleure protection de l'interface que les microgels très réticulés, car les chaînes polymères de ces derniers ne peuvent pas s'enchevêtrer et ainsi créer une cohésion entre les particules.<sup>17</sup> La méthode la plus directe pour quantifier l'adsorption des microgels est de suivre l'évolution de la tension de surface au cours du temps. Cette étude est réalisée pour la première fois en 1999 par Zhang *et al.* sur des interfaces modèles avec des microgels purifiés de poly(NIPAM) contenant différentes quantités de réticulant.<sup>15</sup> Ces études ont mis en évidence que plus le taux de réticulation des microgels est élevé plus leur adsorption à l'interface air-eau est lente.

Une dizaine d'années plus tard, plusieurs équipes ont essayé de trouver un lien entre la stabilité des émulsions et la tension de surface. Brugger *et al.* ont mesuré la tension de surface dynamique de l'interface eau/heptane en fonction de l'état d'ionisation des microgels de poly(NIPAM-co-MAA).<sup>18,19</sup> Quel que soit le pH, les auteurs observent une diminution de la tension de surface au cours du temps, ce qui prouve que les microgels s'adsorbent à l'interface eau/huile même lorsque les acides carboxyliques sont protonés (cf Figure III. 4. a). Bien que les émulsions soient plus stables lorsque les microgels sont chargés, la tension de surface dynamique finale mesurée est plus basse lorsque les microgels sont neutres. Cette expérience est donc la preuve qu'il n'existe pas de lien direct entre la tension de surface et la stabilité des émulsions. Elle prouve également que la déstabilisation des émulsions n'est pas provoquée par la désorption des microgels de l'interface.

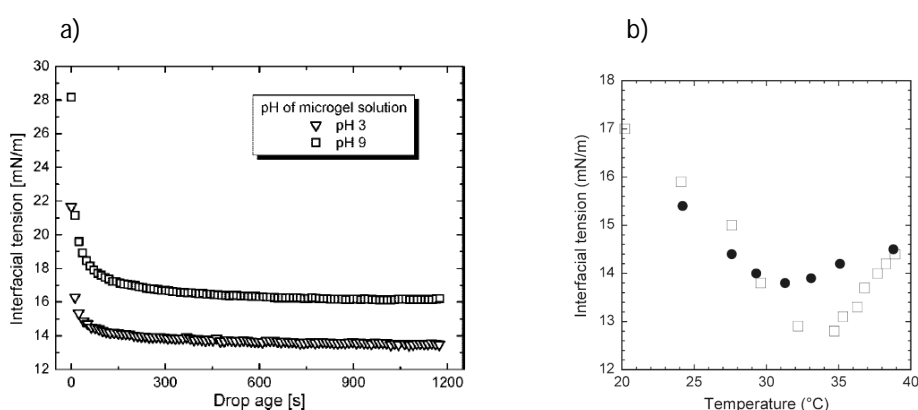


Figure III. 4 : a) Evolution des tensions de surface en fonction du temps, d'une interface heptane/eau en présence de microgels de poly(NIPAM-co-MAA) sensibles au pH. Extrait de <sup>18</sup>. b) Evolution de la tension de surface d'une interface n-dodécane/eau en présence de microgels de poly(NIPAM) thermosensibles en fonction de la température (●) chaque mesure est effectuée sur une nouvelle goutte, (□) toutes les mesures sont effectuées sur la même goutte. Extrait de <sup>20</sup>.

De la même manière l'équipe de Perrin a cherché à établir un lien entre la tension de surface et la stabilité des émulsions stabilisées par des microgels thermosensibles de poly(NIPAM).<sup>20</sup> Pour la première fois, des mesures de tension de surface effectuées en fonction de la température montrent que les microgels conservent une activité interfaciale sur toute la plage de température étudiée (20 °C à 40 °C). La tension de surface atteint une valeur minimum lorsque la température est proche de la VPTT (cf Figure III. 4. b). A cette même température, les émulsions se déstabilisent à cause de la reprise du phénomène de coalescence. Les auteurs attribuent la diminution de la tension de surface, pour  $T < VPTT$ , à la formation d'une couche adsorbée plus dense à cause de la diminution du volume des microgels. Au-delà de la VPTT, la tension de surface augmente car l'arrangement des microgels à l'interface est de plus en plus hétérogène. Dans ce dernier régime de température, les microgels s'adsorberaient sous forme d'agrégats. Cette hypothèse est confirmée par la formation spontanée d'un bloc entre l'eau et l'huile lorsque la température est supérieure à la VPTT. A partir de ces observations, les auteurs proposent un mécanisme de déstabilisation des émulsions. L'activité interfaciale des microgels étant conservée même à chaud, l'hypothèse d'une désorption spontanée des particules n'est pas pertinente. La coalescence serait provoquée par l'apparition de zones non recouvertes entre les amas désordonnés de particules. Une nouvelle fois les auteurs mettent en évidence que la désorption des microgels n'est pas le phénomène responsable de la déstabilisation des émulsions et qu'il n'y a pas de lien direct entre la stabilité des émulsions et la tension de surface.

Les observations réalisées lors de l'étude de la tension de surface dynamique ont permis de confirmer que les microgels ne se désorbent pas lors de la déstabilisation. Cependant, il n'existe pas de lien direct entre la stabilité d'une émulsion et la tension de surface. Dans le but d'obtenir des informations sur le mécanisme de stabilisation, les propriétés mécaniques des interfaces recouvertes de microgels sont alors étudiées. La réponse des microgels à un stimulus serait à l'origine d'une modification des propriétés mécaniques de l'interface sur laquelle ils sont adsorbés, ce qui provoquerait la déstabilisation des émulsions.

#### **I.2.2. Propriétés mécaniques des interfaces couvertes de microgels**

Afin de vérifier cette hypothèse, les propriétés viscoélastiques des interfaces recouvertes de microgels ont été étudiées par l'équipe de Richtering.<sup>18</sup> Lors de cette étude un lien est établi

entre le module élastique mesuré par rhéologie dilatationnelle et la stabilité des émulsions. En effet, lorsque les émulsions sont stabilisées avec des microgels de poly(NIPAM-co-MAA) le module élastique est plus élevé dans les conditions de pH et de température où les émulsions sont le plus stables ( $T < VPTT$  et  $pH > 6$ ). Selon les auteurs, bien que le module élastique diminue avec le pH, à cause de la diminution des répulsions électrostatiques, l'augmentation du module de perte lorsque la température est supérieure à la VPTT est beaucoup plus significative (cf Figure III. 5). Dans ces conditions (pH acide et  $T > VPTT$ ) les microgels s'agrègent, ce qui rend l'interface plus fragile au point de se casser sous les contraintes. D'après cette étude, les propriétés viscoélastiques des interfaces semblent liées à la stabilité des émulsions contrairement à la tension de surface.

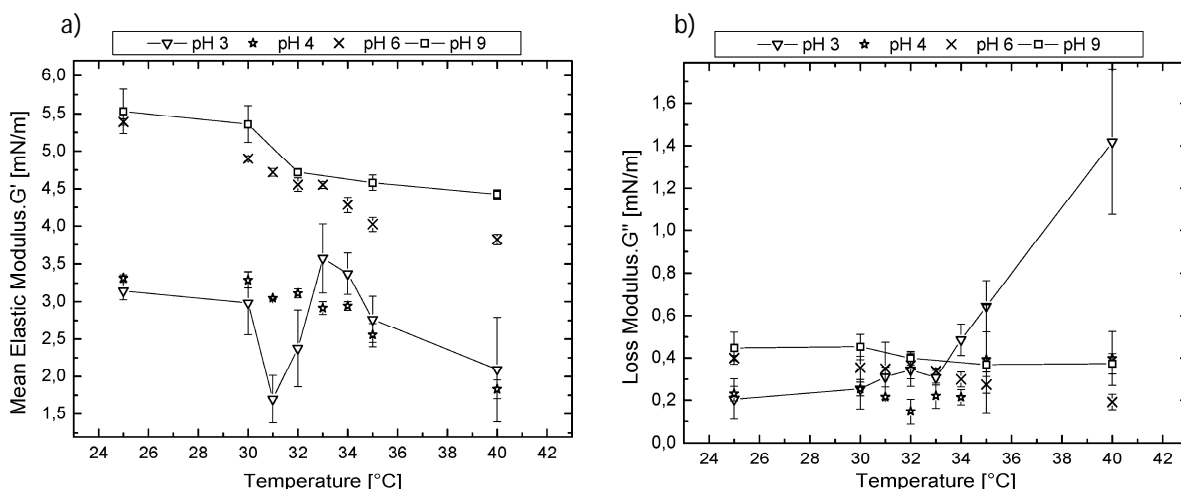


Figure III. 5 : Evolution a) du module élastique et b) du module de perte d'interface heptane/eau en présence de microgels en fonction de la température et du pH. Extrait de <sup>18</sup>.

Une nouvelle étude menée par la même équipe confirme la bonne corrélation entre les propriétés viscoélastiques et la stabilité des émulsions.<sup>21</sup> Dans ces travaux, les résultats de rhéologie en cisaillement, de rhéologie dilatationnelle et les isothermes de compression d'une monocouche de microgels sont comparés. Une nouvelle fois, les résultats mettent en évidence que les propriétés mécaniques de l'interface évoluent en fonction du pH. Les deux types de mesures mènent à la même conclusion : lorsque le pH diminue, l'élasticité de l'interface diminue. Les isothermes de compression permettent de confirmer que le comportement des microgels sous compression forcée est différent en fonction du pH.

L'élasticité de la surface semble alors le paramètre qui permet de faire le lien avec la stabilité des émulsions. Cependant l'origine de ces propriétés et les raisons pour lesquelles elles évoluent, sont encore méconnues. La compressibilité des microgels est une piste plausible mise en évidence par l'équipe de Richtering lors des expériences d'isotherme de compression.

### **I.2.3. Organisation des microgels à l'interface eau-huile.**

La visualisation des microgels adsorbés à la surface de gouttes d'huile a nécessité le développement de nouvelles techniques de microscopie électronique. Les premières images de microgels adsorbés à la surface d'émulsion sont publiées par Ngai *et al.*<sup>10</sup> Elles sont obtenues par microscopie électronique à balayage d'un échantillon d'émulsion congelé puis fracturé (cryo-MEB). La visualisation de microgels de poly(NIPAM-co-MAA) d'une émulsion d'octanol dans l'eau a permis de mettre en évidence la présence d'une monocouche ordonnée de microgels à l'interface. Il a également été observé que le pH a une influence sur la densité de particules à l'interface. L'équipe de Kawaguchi observe également la présence de microgels thermosensibles organisés à l'interface par microscopie confocale.<sup>14</sup> Par cette technique, ils déterminent que les microgels couvrent entre 75 % et 100 % de l'interface sur laquelle ils sont adsorbés.

L'équipe de Richtering développe également une technique de visualisation des microgels directement à l'interface par cryo-microscopie électronique à balayage.<sup>19,21</sup> Par cette technique, les auteurs ont réussi à mettre en évidence que le taux de couverture des microgels sensibles au pH évolue en fonction de celui-ci. Les résultats sont contre-intuitifs puisque le taux de couverture est plus élevé à pH acide lorsque les émulsions sont le moins stables. Afin d'expliquer la stabilité des émulsions, les auteurs se servent des propriétés mécaniques des interfaces ainsi que des interactions entre les microgels. Lorsque ces derniers sont chargés (pH élevé), ils peuvent s'interconnecter partiellement, ce qui leur confère une certaine élasticité, alors que lorsqu'ils ne sont pas chargés, la densité de microgels est tellement grande que l'application d'une contrainte entraîne la rupture du film et provoque ainsi l'effondrement de l'émulsion. Une autre observation, également importante, concerne la taille des microgels une fois adsorbés à l'interface. Il semble que le diamètre des microgels soit plus élevé lorsqu'ils sont adsorbés à l'interface à pH 9 que leur diamètre hydrodynamique en solution dans les

mêmes conditions. De manière surprenante cette observation n'est pas valable lorsque le pH de la solution est de 3. Ce phénomène n'est pas discuté par les auteurs.

Dans le cadre de la thèse de Mathieu Destribats, l'équipe de Valérie Ravaine et de Véronique Schmitt a examiné l'organisation des microgels à l'interface des gouttes d'émulsion. Cette organisation a été établie par deux techniques différentes, la coalescence limitée d'une part, qui permet de déterminer le taux de couverture comme expliqué dans le paragraphe I, et l'imagerie directe par cryo-MEB.<sup>22</sup> Afin de s'affranchir de la contribution électrostatique, les microgels de poly(NIPAM) neutres ont été choisis. L'impact de la déformabilité est étudié en faisant varier le taux de réticulation des microgels. La microscopie confocale a également permis de visualiser cette organisation, mais son exploitation reste limitée dans la mesure où les images montrent la répartition des fluorophores, qui n'est pas nécessairement uniforme dans les microgels (cf Figure III. 6). Ces images permettent cependant de confirmer que les microgels forment un réseau hexagonal à l'interface eau-huile.

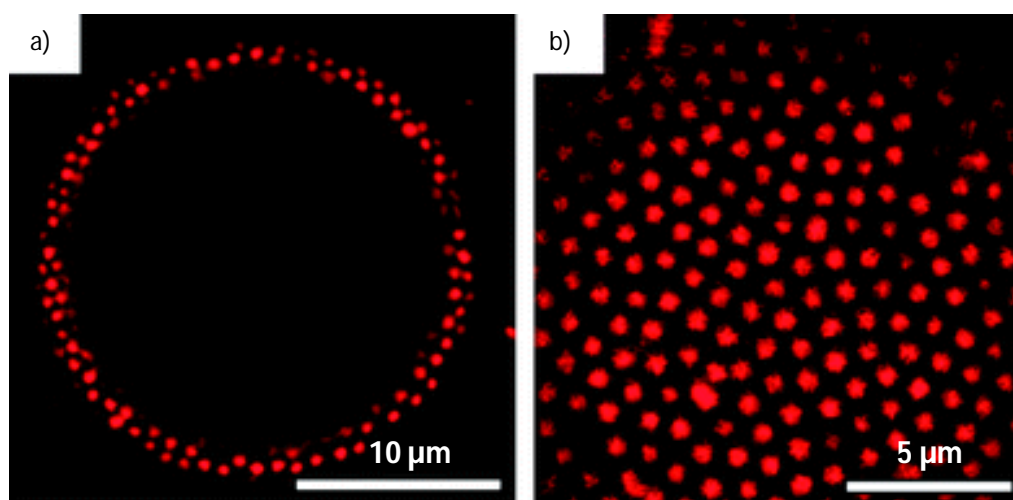


Figure III. 6 : Image de microscopie confocale d'une goutte d'hexadécane stabilisée par des microgels fluorescents de poly(NIPAM) constitués de 2,5 % molaire de BIS : a) est une vue dans le plan équatorial de la goutte et b) une vue de l'organisation des microgels au pôle de la goutte. Les barres d'échelle représentent respectivement 10 μm et 5 μm. Adapté de <sup>22</sup>.

L'étude par coalescence limitée a montré que les microgels se comportent comme des particules solides sur cet aspect. Les émulsions subissent le phénomène de coalescence limitée pour des faibles concentrations en particules (d'autant plus faible que le taux de réticulation est

grand). Dans le régime pauvre en particules, on observe une évolution linéaire de l'inverse du diamètre des gouttes en fonction du nombre de microgels introduits dans la phase aqueuse. Les courbes sont superposables pour tous les taux de réticulation inférieurs à 5 % et permettent de déterminer le taux de couverture, qui vaut 40 % (cf Figure III. 7). Cette valeur, inférieure à la valeur de 90 % qu'on aurait pour une monocouche d'empilement hexagonal compact de microgels non déformés, indique que les microgels occupent un réseau hexagonal dont le paramètre de maille est bien plus grand que le diamètre hydrodynamique des microgels en solution. Ils sont soit déformés soit sans contact entre eux.

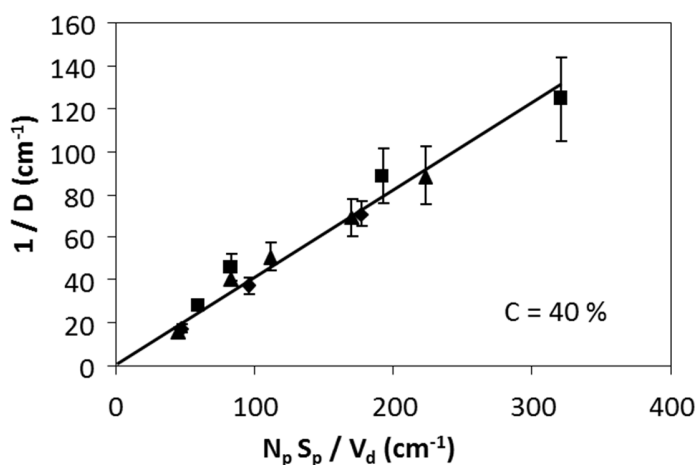


Figure III. 7 : Evolution de l'inverse du diamètre moyen des gouttes d'hexadécane ( $1/D$ ) en fonction de la surface équatoriale totale des particules normalisée par le volume d'huile pour trois échantillons de microgels dont les taux de réticulation sont de 1,5% molaire (■), 2,5 % molaire (▲) et 3,5 % molaire (◆). Adapté de <sup>22</sup>.

Une étude systématique par cryo-MEB a également permis de déterminer le taux de couverture. Les interfaces sont recouvertes de microgels ordonnés en réseau hexagonal compact (cf Figure III. 8). Les microgels sont visiblement déformés, aplatis à l'interface. La sublimation partielle de l'eau et de l'huile permet de révéler la présence de polymère sur la totalité de l'interface. Les microgels ne sont pas uniformément déformés. Ils possèdent un cœur protubérant et une écorce aplatie. Cette structure cœur-écorce s'explique par la répartition non uniforme du réticulant dans les microgels, celui-ci étant plus concentré au cœur du fait de sa réactivité plus grande que celle du NIPAM.<sup>23</sup> Les microgels apparaissent ainsi comme des « œufs au plat », les jaunes étant les cœurs, les blancs les écorces. Ces dernières moins

réticulées sont interconnectées, les chaînes de polymère pendantes sont enchevêtrées. Les microgels forment donc un réseau 2D à l'interface eau-huile. La distance centre-à-centre, notée  $d_{CC}$ , caractéristique de ce réseau permet de remonter au taux de couverture par la formule suivante :

$$C = \frac{\pi d_{25^\circ C}^2}{2 \sqrt{3} d_{CC}^2} \quad (5)$$

Avec  $d_{25^\circ C}$  le diamètre hydrodynamique des microgels en solution à 25 °C.

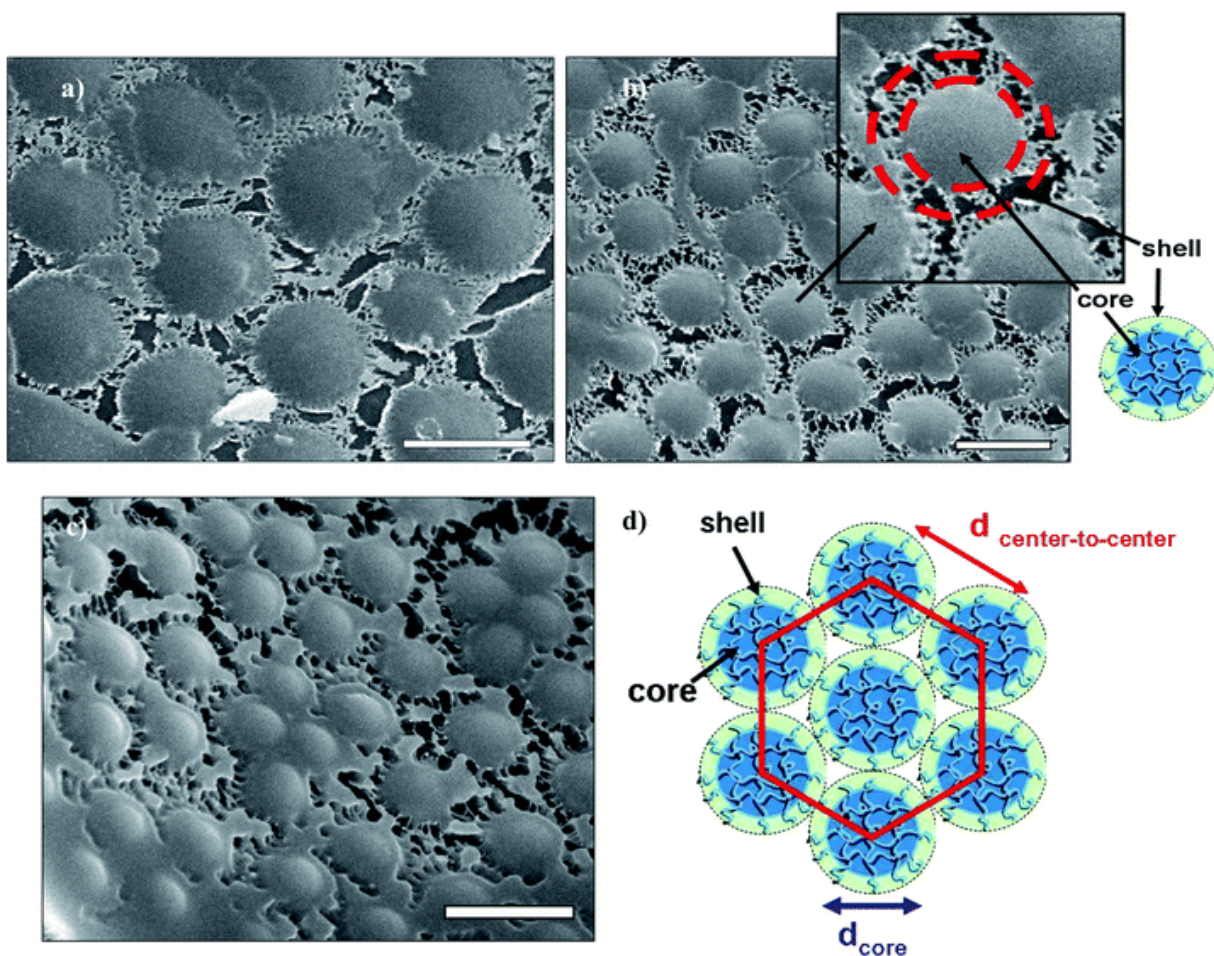


Figure III. 8 : Clichés de cryo-MEB après sublimation d'une goutte d'heptane recouverte par des microgels contenant a) et b) 2,5 % molaire de BIS et c) 5 % molaire de BIS. Les barres d'échelle représentent 1 μm. Le schéma d) représente l'organisation des microgels à l'interface. Adapté de<sup>22</sup>.

L'analyse systématique des images de cryo-MEB a permis de montrer que C valait 35 %, ce qui est en bon accord avec les résultats obtenus par coalescence limitée.

***La conclusion de cette étude est que les microgels sont déformés à l'interface eau-huile.***

L'impact de la déformabilité des microgels à l'interface eau-huile sur la stabilité des émulsions a pu être établi. Les émulsions formulées avec des microgels peu réticulés apparaissent stables à température ambiante. Lorsqu'elles sont chauffées au-dessus de la VPTT des microgels, les émulsions se déstabilisent. En revanche, les émulsions formulées avec des microgels plus réticulés (% molaire de BIS  $\geq 5$  %) sont peu stables à température ambiante. Il est possible de les préparer, mais elles se déstabilisent sous l'effet d'une légère agitation. (cf Figure III. 9).



Figure III. 9 : Séparation de phase provoquée par une faible agitation d'une émulsion stabilisée par des microgels composés de 5 %mol de réticulant. Extrait de <sup>22</sup>.

Ainsi il apparaît que les microgels requièrent un minimum de déformabilité pour que des émulsions stables soient obtenues. Dès que la déformabilité diminue, soit par l'élévation de température qui conduit à la contraction des microgels, soit par une augmentation de la réticulation, la stabilité des émulsions diminue.

Cette perte de stabilité a été attribuée à une diminution de l'élasticité des interfaces, possiblement en lien avec une diminution du degré d'enchevêtrement des chaînes périphériques (cf Figure III. 10).



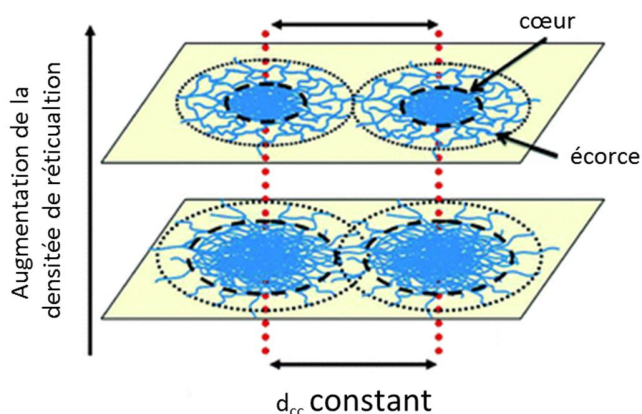


Figure III. 10 : Schéma représentatif de l'influence du taux de réticulation sur la conformation des microgels. Adapté de <sup>22</sup>.

#### I.2.4. Adhésion des émulsions stabilisées par des microgels

La plupart des émulsions stabilisées par des microgels de poly(NIPAM) dans le régime de coalescence limitée, se sont révélées floculées : elles forment un bloc solide qui ne s'écoule pas lorsque l'on incline le récipient (cf Figure III. 11. a). Destribats *et al* ont étudié l'origine de cette floculation.<sup>24</sup>

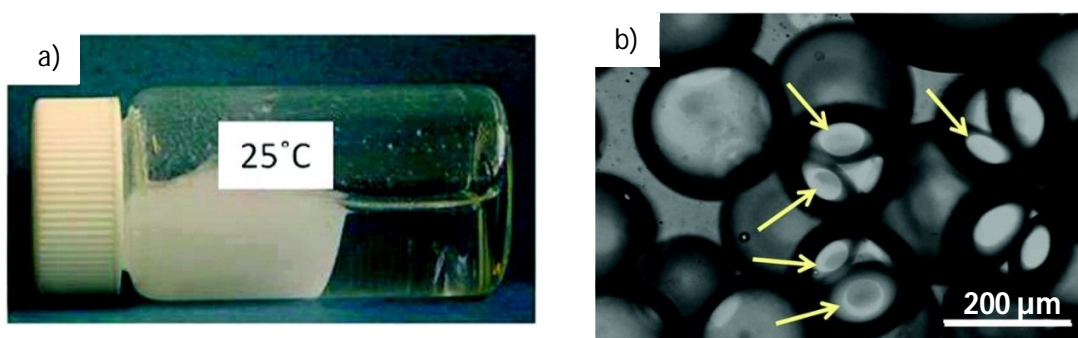


Figure III. 11 : (a) Photographie d'une émulsion floculée eau-dodécane stabilisée par des microgels contenant 3,5 % molaire de BIS. (b) Cliché de microscopie optique d'une émulsion eau-hexadécane stabilisée par des microgels contenant 1,5 % molaire de BIS. La barre d'échelle représente 200 µm. Les flèches indiquent le film adhésif entre deux gouttes. Extrait de <sup>24</sup>.

L'observation des gouttes au microscope optique montre que les gouttes sont déformées et forment un film adhésif entre elles (cf Figure III. 11. b). La détermination des axes a et b de l'ellipse formée par cette adhésion permet de remonter à la valeur de l'angle d'adhésion entre

les gouttes. Cet angle est également visible de profil dans les images de cryo-MEB (cf Figure III. 12. a). Il a été montré que cet angle augmente avec le taux de réticulation. L'analyse de la structure des films adhésifs par cryo-MEB a révélé que les microgels pontaient les interfaces entre deux gouttes adjacentes. Les pontages se manifestent par la formation de lignes de constriction à la surface des films plats, lorsque ces derniers sont hydratés. Après sublimation partielle de l'eau et de l'huile, le squelette polymérique du film est révélé, mettant en évidence l'existence de ces ponts (cf Figure III. 12. b). Lorsque le taux de réticulation augmente, la densité de ponts augmente également.<sup>24</sup>

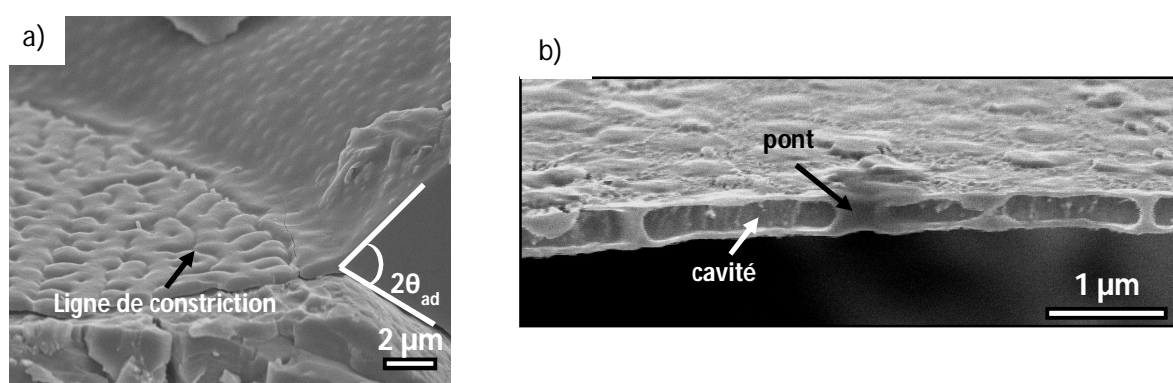


Figure III. 12 : a) cliché de cryo-MEB d'un film adhésif entre deux gouttes stabilisées par des microgels contenant 2,5 % molaire de BIS. L'angle d'adhésion entre les gouttes est représenté. La barre d'échelle représente 2  $\mu\text{m}$ . b) cliché de cryo-MEB d'un film adhésif déshydraté entre 2 gouttes stabilisées par des microgels contenant 2,5 % molaire de BIS. La barre d'échelle représente 1  $\mu\text{m}$ . Adapté de <sup>24</sup>.

De manière plus générale, il a été montré que l'adhésion des émulsions pouvait être modulée par différents paramètres structuraux ou de procédé. Ainsi, l'adhésion diminue lorsque la taille des microgels diminue. Cet effet est concomitant avec une diminution de la déformation des microgels à l'interface eau-huile. Le procédé d'émulsification peut également changer l'état d'adhésion de l'émulsion. Lorsque les microgels sont adsorbés à chaud et que l'émulsion est ensuite rapidement refroidie, les microgels sont comprimés latéralement. Dans ces conditions, la distance centre-à-centre est inférieure à leur diamètre hydrodynamique en solution et les émulsions ne sont pas adhésives.<sup>24</sup> Lorsqu'elles sont préparées à température ambiante sous émulsification douce, avec des microgels très déformables, le même type d'organisation peut être obtenu. Les émulsions résultantes sont également non floculées.<sup>25</sup> Ainsi, il apparaît systématiquement que la floculation se produit lorsque la couverture de

l'interface possède un profil hétérogène. Lorsque les microgels sont comprimés ou peu déformés, l'épaisseur de polymère à la surface est supérieure à celle obtenue avec des microgels aplatis. Il en est conclu que l'adhésion est favorisée par la mise en commun de microgels dans les zones peu denses en polymère (cf Figure III. 13).

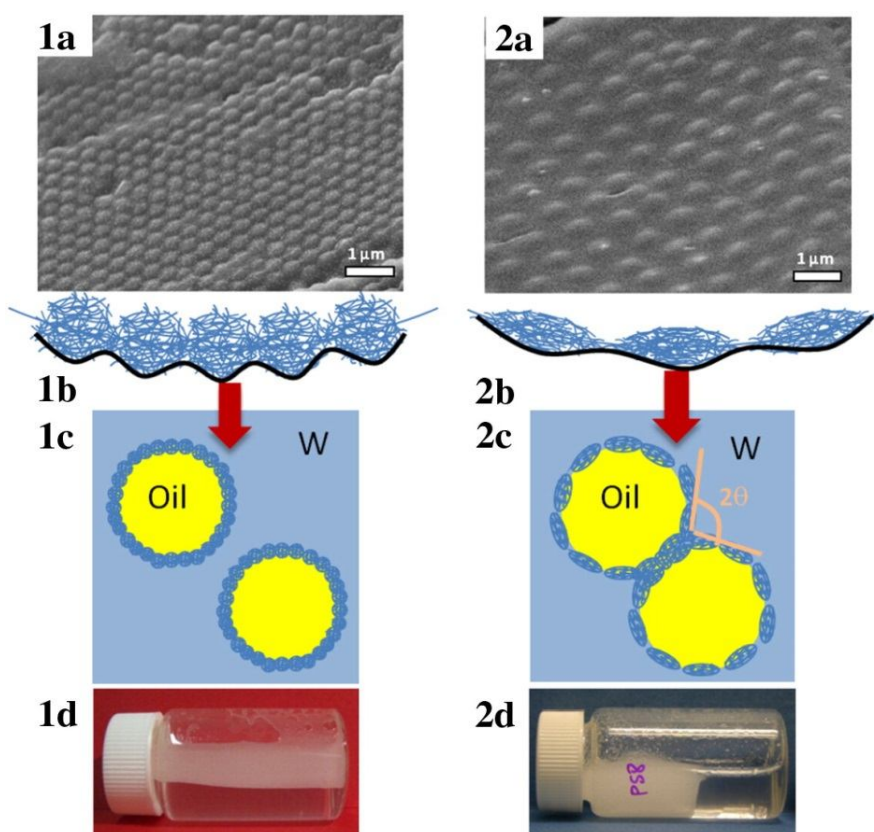


Figure III. 13 : Contrôle de l'arrangement des microgels à l'interface eau/huile et la conséquence sur l'adhésion. Emulsion 1 non flocculée et 2 flocculée provoquée par l'adhésion entre les gouttes. Image a) obtenue par cryo-MEB du film de microgels permettant d'apprécier la densité de la monocouche schématiquement représentée en b) et l'impact sur les propriétés macroscopiques des émulsions c) et d). Extrait de <sup>4</sup>.

Le contexte de notre étude étant défini nous allons présenter nos travaux sur les microgels adsorbés aux interfaces modèles. Tout d'abord nous détaillerons la synthèse des microgels et les techniques utilisées, puis nous exposerons les résultats obtenus avant de les confronter et de les discuter.



### **Diffusion dynamique de la lumière (DLS)**

Les diamètres et les PDI des microgels sont déterminés à l'aide d'un Zetasizer Nano S-90 (Malvern Instruments) doté d'un laser HeNe et d'un système de détection à  $\theta = 90^\circ$ . Les mesures sont réalisées à la température souhaitée sur des solutions de microgels diluées (de 0,05 g/L à 0,1 g/L de polymères). Les données sont traitées par le logiciel fourni avec l'appareil.

## **II.1.2. Préparation et caractérisation des émulsions**

### **Fabrication des émulsions**

Les émulsions sont fabriquées à partir d'un mélange d'eau contenant les microgels et de l'huile. Les émulsions sont réalisées en mélangeant 13 mL de phase aqueuse contenant les microgels à une concentration  $C_p$  avec 7 mL de dodécane. La concentration  $C_p$  est soit égale à 0,03 % massique (régime de coalescence limitée) soit égale à 1 % massique (régime riche en microgels). La fragmentation de la phase dispersée est obtenue à l'aide d'un Ultra-Turrax T25 (JANKE & KUNKEL, IKA). L'axe de cet appareil (S25 N-10G) comporte deux pièces, un stator (diamètre : 10 mm) et un rotor (diamètre 7,5 mm), qui sont deux cylindres concentriques séparés par un entrefer (0,35 mm). L'extrémité de cette pièce comporte des créneaux de forme carrée permettant la circulation du fluide. En raison de la grande vitesse de rotation, l'émulsion est aspirée automatiquement dans la tête de dispersion puis fragmentée par le gradient de vitesse dans l'entrefer. L'appareil est équipé d'un moteur permettant le mouvement du rotor à des vitesses comprises entre 8 000 et 24 000 tr/min. Dans notre étude, les émulsions, préparées à une vitesse de 13 500 tr/min (taux de cisaillement :  $15 \cdot 10^3 \text{ s}^{-1}$ ).

A l'issue de la fragmentation, l'émulsion préparée dans le régime de coalescence limitée est caractérisée puis stockée 24 h à 25 °C. La sous-phase (phase aqueuse) est alors retirée et remplacée par une solution à 1 % massique de microgels. Après 5 jours d'incubation à 25 °C, l'émulsion est une nouvelle fois caractérisée.

### **Estimation du nombre de microgels :**

Le nombre de microgels dans une solution de concentration connue peut être estimé grâce aux travaux de Lele *et al.* qui ont permis de déterminer qu'à 50 °C les microgels sont

composés de 71 % massique de polymère et 29 % massique d'eau.<sup>26</sup> Après avoir mesuré le diamètre hydrodynamique des microgels à cette température, le nombre de microgels en solution est estimé de la manière suivante :

$$n_{\text{particules}} = \frac{6m_{\text{polymère}}}{\pi(d_{50\text{ °C}})^3} \left( \frac{1}{\rho_{\text{polymère}}} + \frac{0,29}{0,71\rho_{\text{eau}}} \right) \quad (6)$$

où  $m_{\text{polymère}}$  la masse de microgels,  $\rho_{\text{polymère}} = 1,269 \text{ g/cm}^3$  et  $\rho_{\text{eau}} = 0,988 \text{ g/cm}^3$  sont les masses volumiques du polymère et de l'eau à 50 °C et  $d_{50\text{ °C}}$  est le diamètre hydrodynamique des microgels en solution à une température de 50 °C.

### II.1.3. Films de Langmuir

Cette technique communément utilisée en physico-chimie des interfaces, permet d'étudier les forces interfaciales de molécules ou de particules adsorbées à l'interface liquide-air ou liquide-liquide. Pour ce faire, les molécules ou particules sont adsorbées à la surface d'une étendue de liquide de grande dimension (ou à l'interface entre deux liquides). L'aire de cette surface peut être rétrécie par des barrières mobiles. Le dispositif appelé « cuve de Langmuir ».

Ce dispositif a été beaucoup utilisé dans le cadre de l'étude de systèmes moléculaires, pour établir le diagramme de phase de molécules amphiphiles insolubles dans l'eau. La cuve est alors remplie d'eau. Les molécules sont déposées à la surface à partir d'une solution constituée d'un solvant non miscible à l'eau et volatil. Une faible quantité de molécules est épanchée. Lorsque la surface allouée est grande, les molécules sont sans interactions entre elles. Lorsque la surface diminue, elles se compriment à l'interface. La pression de surface augmente au fur et à mesure que la densité surfacique de molécules augmente. On peut alors étudier une isotherme de compression décrite par l'évolution de la pression de surface en fonction de l'aire par molécule  $\pi = f(a)$ . Le diagramme de phase fait souvent apparaître des transitions entre une phase gaz (molécules sans interactions entre elle), une phase liquide expansé puis liquide condensé et enfin solide, au fur et à mesure que les interactions attractives et l'ordre dans la couche augmentent. Le solide bidimensionnel est peu compressible, il se rompt. Ce phénomène porte le nom de collapse.

Cette technique a donc été adaptée pour étudier la compression forcée de microgels de poly(NIPAM) à l'interface eau-huile. Les isothermes de compression des microgels de poly(NIPAM) neutres ont été réalisées lors d'un séjour dans l'équipe de Walter Richtering à Aachen sur une cuve de Langmuir-Blodgett (KSN NIMA) spécialement modifiée pour les études à l'interface eau huile. La cuve mesure 54 mm de large pour 736,5 mm de long soit une aire totale de 398 cm<sup>2</sup>. La cuve et les barrières sont en polyoxyméthylène (Delrin). La pression de surface est enregistrée à l'aide d'une plaque en platine reliée à une balance de Wilhelmy. Les microgels sont dispersés dans un mélange eau-isopropanol (5 :1). L'isopropanol est utilisé comme mauvais solvant des microgels, afin de favoriser l'adsorption des microgels à l'interface, tout en évitant qu'ils ne se dispersent dans la phase aqueuse. Avant d'épandre les microgels, l'absence d'agrégat est vérifiée par DLS. La suspension est ensuite déposée avec une seringue Hamilton à l'interface eau-huile dans la cuve. Après un temps d'attente de 30 min, les barrières sont rapprochées de manière symétrique par rapport à la balance à une vitesse de 10 mm/min (cf Figure III. 15). La pression de surface est enregistrée pendant la diminution de l'aire interfaciale. La courbe entière de l'évolution de la pression de surface en fonction de l'aire de l'interface est obtenue en faisant varier la concentration des microgels de 1 % massique à 2 % massique ainsi que le volume de solution déposé à l'interface de 30 µl à 120 µl.

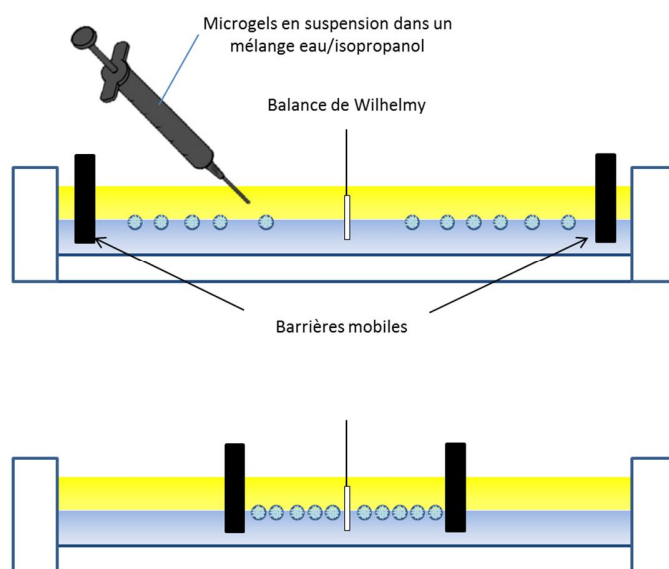


Figure III. 15 : Schéma de la cuve de Langmuir-Blodgett vue de profil utilisée a) lorsque les barrières sont écartées au maximum et b) lorsqu'elles se rapprochent de manière symétrique par rapport à la balance de Wilhelmy.

### II.1.4. Tension interfaciale dynamique

Il existe de nombreuses méthodes de mesure de tensions interfaciales entre deux liquides. L'une d'entre elles consiste à placer une goutte dans un champ de force : c'est le cas de la méthode de la goutte pendante. Une goutte de liquide est formée à l'extrémité d'une aiguille. La forme de cette goutte résulte de la compétition entre la force de pesanteur et les forces capillaires. Le contour de la goutte en tout point M d'ordonnée y (cf Figure III. 16) est décrit par l'équation de Laplace :

$$\gamma_{int} \left( \frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right) = \Delta \rho g (y - h) + \frac{2\gamma_{int}}{b} \quad (7)$$

avec h et b respectivement l'ordonnée et le rayon de courbure au sommet de la goutte,  $R_1$  et  $R_2$  sont les deux rayons de courbure principaux au point considéré et  $\Delta \rho$  est la différence de densité entre les deux phases. Il est donc possible, en déterminant le profil de la goutte à l'équilibre (par numérisation d'image), de calculer la valeur de la tension interfaciale  $\gamma_{int}$ . Cette mesure est d'autant plus précise que la goutte formée est volumineuse.

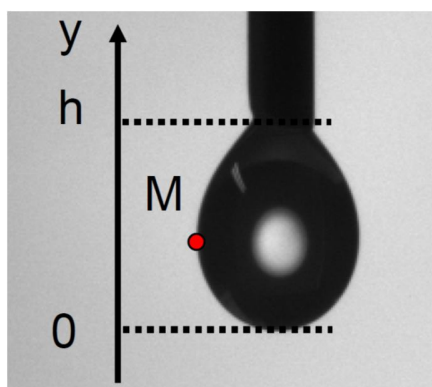


Figure III. 16 : Profil d'une goutte pendante.

Les mesures sont effectuées sur des gouttes de solutions de microgels, à différentes concentrations, formées dans du *n*-dodécane sur un appareil de la marque Teclis. La tension de surface est enregistrée en fonction du temps pendant 10 000 s sur des gouttes de 6  $\mu$ l. Dans cette méthode les microgels s'adsorbent spontanément à l'interface.



### II.1.5. Rhéologie dilatationnelle

L'évolution des propriétés mécaniques des interfaces, couvertes de microgels en réponse à plusieurs cycles de compression-dilatation, est étudiée par rhéologie dilatationnelle. Pour ce faire une goutte de solution de microgels est créée à l'extrémité d'une aiguille. Après un temps d'attente variant de 0 s à 3000 s, la goutte est soumise à des variations sinusoïdales de sa surface ( $A = A_0 \sin(2\pi ft)$  où  $f$  est la fréquence de la sinusoïde), ce qui provoque la modification de sa forme et donc de  $\gamma_{int}$ . L'élasticité dilatationnelle est définie par Gibbs de la manière suivante :

$$E^* = \frac{d\gamma_{int}^*}{d\ln A^*} \quad (8)$$

où le module d'élasticité complexe peut être décomposé en une partie réelle et une partie imaginaire qui sont respectivement le module élastique et le module de perte. Si les variations de surface ( $A_0$ ) sont suffisamment faibles, les modules d'élasticité et de perte sont indépendants de celles-ci (domaine linéaire).

Une solution aqueuse de microgels de concentration connue est injectée avec une seringue (SGE Analytical Science) dans une cellule en quartz contenant 3 mL de décane ou de dodécane. Le volume initial de la goutte est de 6  $\mu$ L. Les modules d'élasticité et de perte sont mesurés en faisant varier la surface pendant 200 s à une fréquence de 0,2 Hz, après un temps de stabilisation défini au début de l'expérience. Afin de déterminer les limites du domaine linéaire nous avons étudié l'évolution des modules élastiques en fonction de l'amplitude de la variation de surface. Pour une variation de surface comprise entre 3 % et 40 % de la surface initiale les modules élastiques n'évoluent pas. Nous avons alors mené notre étude en appliquant une amplitude de 10 % par rapport à la surface initiale de la goutte.

### II.1.6. Observation des microgels adsorbés à la surface d'émulsions

#### Microscopie Electronique à balayage à froid (Cryo-MEB)

Les analyses de cryo-MEB, effectuées sur un JEOL 6700FEG, permettent d'observer l'arrangement des particules à l'interface. Grâce à cette technique à forte résolution, il est possible d'imager directement l'interface des émulsions. Un échantillon de ces dernières est tout d'abord placé sur le porte-échantillon, puis rapidement congelé par une trempe dans de l'azote

liquide. L'huile utilisée pour ces expériences est du *n*-dodécane, car sa température de fusion est basse (-9,6 °C), ce qui permet d'éviter la cristallisation de l'huile lors de la trempe. L'échantillon est ensuite transféré sous vide dans une chambre de préparation où il est maintenu à -150 °C sous un vide de  $10^{-5}$  Pa. C'est dans la chambre de préparation que l'on peut fracturer l'échantillon avec une lame. Dans certains cas, la température de la chambre est élevée à -95 °C pendant 5 minutes avant d'être à nouveau abaissée à -150 °C, dans le but de sublimer une partie de l'huile et de l'eau. L'échantillon est ensuite métallisé avec un alliage or-palladium sous flux d'argon. Il est ensuite introduit dans la chambre d'observation du microscope sur une platine, elle aussi refroidie à -150 °C.

### **II.1.7. Observation des microgels adsorbés à une interface plane**

#### **Freeze-fracture shadow-casting cryo-SEM (FresCa)**

Cette technique d'imagerie a été récemment développée par le groupe de Lucio Isa à Zurich pour déterminer la position dans les 3 dimensions de particules colloïdales adsorbées à l'interface eau-huile.<sup>27</sup> Dans le cas des microgels, ces informations sont susceptibles de nous permettre de mieux connaître la conformation et le mouillage des particules à l'échelle nanométrique. Cette méthode consiste en la préparation et la congélation d'une interface eau-huile plane sur laquelle sont adsorbées des particules. Après avoir retiré la phase huile par fracture de l'échantillon, l'interface est recouverte par un film de tungstène vaporisé avec un angle de 30 ° par rapport à l'interface. Etant donné que les particules sont protubérantes, une zone de l'interface n'est donc pas recouverte par le tungstène, ce qui permet de calculer la position verticale des particules en mesurant leur diamètre, ainsi que la zone dépourvue de tungstène (cf Figure III. 17). L'interface est refroidie très rapidement en utilisant des jets de propane liquide (Bal-Tec-Leica JFD 030, Balzers-Vienna), puis fracturée, recouverte de tungstène (Bal-Tec-Leica BAF060) et observée sous vide à très faible température avec un MEB (Zeiss Gemini 1530, Oberkochen). Les échantillons sont préparés à partir de solutions des microgels, de concentrations connues, injectées sur un porte échantillon en cuivre. Dans cette technique les microgels s'adsorbent spontanément à l'interface et aucun solvant n'est utilisé pour faciliter l'épandage des microgels.

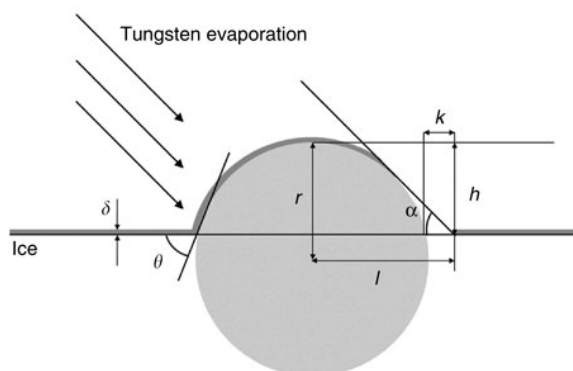


Figure III. 17 : Représentation d'une nanoparticule hydrophile de rayon  $r$  adsorbée à l'interface après la déposition du métal. L'angle de contact  $\theta$ , l'angle de vaporisation du métal  $\alpha$ , l'épaisseur  $\delta$  du dépôt, la hauteur  $h$  de la particule par rapport à l'interface et la longueur  $k$  de la zone dépourvue de métal sont représentés. Extrait de <sup>27</sup>.

## II.2. Résultats expérimentaux

Les études rapportées dans la littérature sur les émulsions de Pickering stabilisées par des microgels ont permis de mettre en évidence que ces derniers forment une monocouche organisée à l'interface. De plus, en fonction de la morphologie des microgels les propriétés mécaniques des interfaces et les propriétés des émulsions changent. Notre étude a donc pour objectif d'approfondir les connaissances sur les liens qui existent entre les propriétés interfaciales (tension de surface, pression de surface et élasticité dilatationnelle) et la morphologie des microgels adsorbés. Pour cela, des expériences de tension de surface dynamique, de rhéologie dilatationnelle ainsi que des isothermes de compression sont réalisées sur des interfaces modèles couvertes de microgels. Ces études sont réalisées sur des échantillons de microgels contenant différents taux de réticulation, qui permettent l'obtention d'émulsions de stabilité très différente.

### II.2.1. Caractérisation des microgels

Dans le but de s'affranchir des phénomènes électrostatiques, nous avons choisi de travailler avec des microgels de poly(NIPAM) neutres.

Tableau III. 1 : Tableau récapitulatif de la composition et de la taille des microgels

Echantillon	Taux de réticulation (%mol.) BIS	Diamètre hydrodynamique en nm à 25 °C (PDI)	Diamètre hydrodynamique en nm à 50 °C (PDI)
Bis25	2,5	632 (0,08)	234 (0,04)
Bis35	3,5	634 (0,07)	295 (0,05)
Bis50	5	600 (0,03)	240 (0,02)
Bis100	10	691 (0,08)	359 (0,06)

Plusieurs échantillons de microgels sont synthétisés par polymérisation radicalaire par précipitation en milieu aqueux, avec différentes quantités de BIS (réticulant). La composition des différents échantillons de microgels est listée dans le Tableau III. 1. Le diamètre hydrodynamique des microgels à 25 °C issus des différentes synthèses est comparable, ce qui permet de s'affranchir de l'effet du diamètre des microgels sur les propriétés interfaciales.<sup>28</sup>

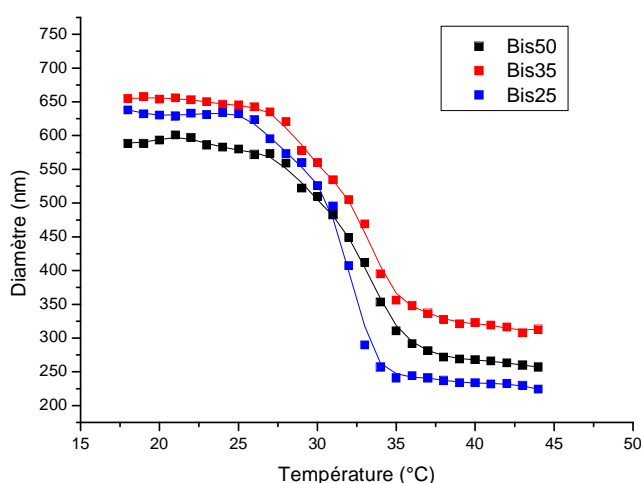


Figure III. 18 : Evolution du diamètre hydrodynamique des microgels Bis50 (■), Bis35 (■) et Bis25 (■) en fonction de la température dans l'eau pure.

L'étude de l'évolution des microgels en fonction de la température prouve qu'ils conservent leur sensibilité à la température quel que soit le taux de réticulation (Figure III. 18). Cependant leur taux de gonflement diminue avec l'augmentation de la réticulation.

## II.2.2. Films de Langmuir : étude en compression

### II.2.2.1. Mise au point des conditions expérimentales

Afin d'obtenir l'isotherme complète des microgels sous compression forcée, plusieurs expériences ont dû être effectuées. Lors de la première expérience, 10  $\mu\text{l}$  de suspension contenant 1 % massique de microgels et de l'isopropanol sont déposés à l'interface eau/décane dans la cuve de Langmuir. Après un temps d'attente de 30 minutes correspondant à la mise à l'équilibre du film de microgels, les barrières sont rapprochées pour diminuer l'aire de la cuve. La pression de surface, initialement nulle, augmente et semble se stabiliser pour une valeur comprise entre 30 et 35 mN/m. Cette expérience est ensuite répétée avec une plus grande quantité de microgels déposée à l'interface. Pour cela nous augmentons le volume du dépôt et/ou la concentration massique en microgels de la solution jusqu'à déposer au maximum 120  $\mu\text{l}$  de solution à 2 % massique. En considérant que tous les microgels déposés à l'interface restent adsorbés, la surface disponible entre les barrières peut être normalisée soit par gramme de microgels (cf Figure III. 19), soit par le nombre de particules (cf Figure III. 20).

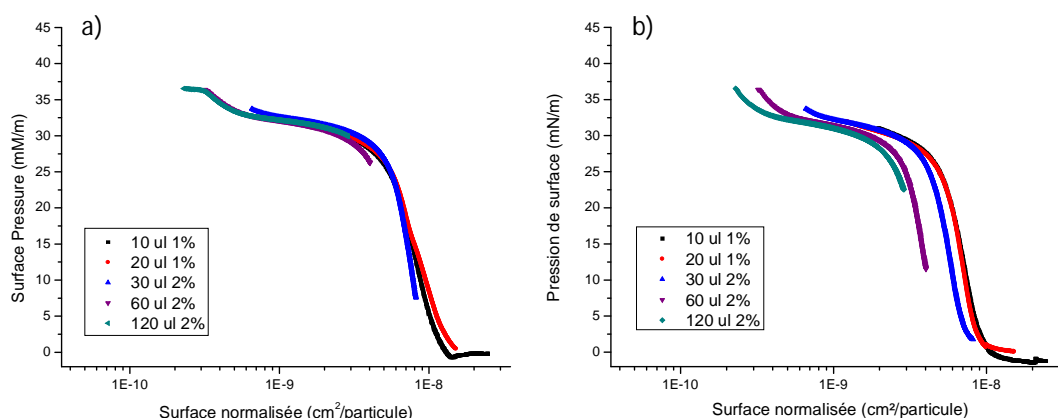


Figure III. 19 : Influence de la quantité de microgels Bis25 déposée à l'interface eau/huile sur les films de Langmuir. Evolution de la pression de surface en fonction de l'aire par particule lorsque la surface entre les barrières a) diminue ou b) augmente.

De cette manière nous pouvons sonder le comportement des microgels à des taux de compression plus élevés, ce qui nous permet d'observer une seconde transition (cf Figure III. 19). En effet, après le premier plateau, la pression de surface augmente à nouveau jusqu'à atteindre un second plateau à 37 mN/m. Les différentes isothermes obtenues présentent un bon recouvrement correspondant à une seule et unique courbe qui sera présentée et discutée dans la partie suivante pour les microgels Bis25 et Bis50.

### II.2.2.2. Evolution de l'organisation des microgels en fonction de la compression

Les isothermes obtenues avec les microgels diffèrent significativement de celles obtenues avec des particules solides non déformables. Dans ce cas, la pression de surface est nulle lorsque les particules sont suffisamment éloignées pour ne pas interagir (surface par particule élevée) puis augmente lorsqu'elles sont en contact ou lorsque les répulsions électrostatiques s'opposent au rapprochement des particules (cf Figure III. 20. b).<sup>29,30</sup> En revanche, avec les microgels, nous distinguons cinq domaines différents qui sont représentés sur la Figure III. 20. a.

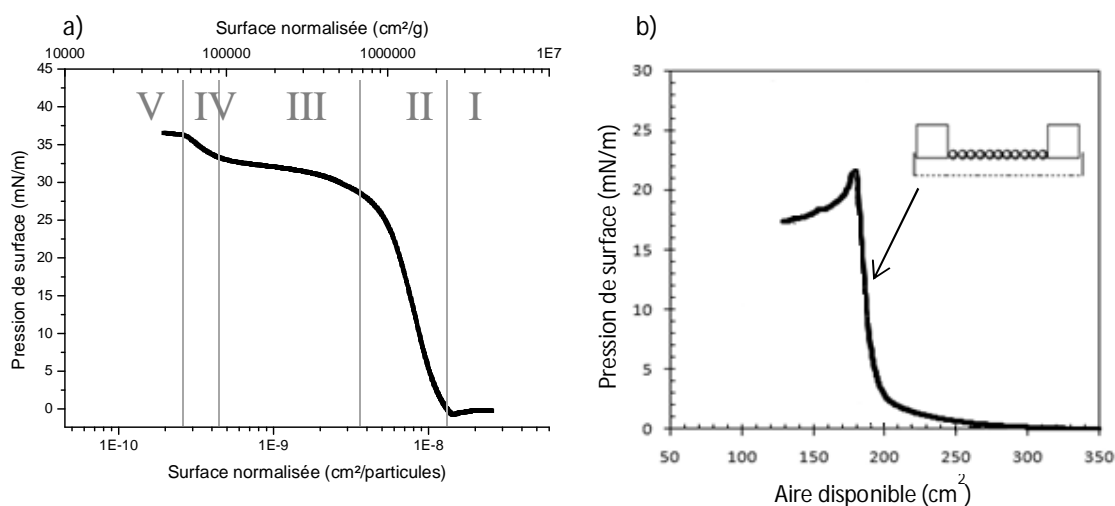


Figure III. 20 : a) Evolution de la pression de surface en fonction de l'aire normalisée d'un film de microgels Bis25. Les domaines I, II, III, IV et V correspondent à différentes conformations des microgels qui sont décrites dans le corps du texte. b) Evolution de la pression de surface en fonction de l'aire disponible d'un film de latex de polystyrène de 122 nm de diamètre. Adapté de <sup>30</sup>.

Dans le domaine I, la pression de surface est nulle, les microgels sont donc suffisamment éloignés les uns des autres pour ne pas interagir. Le second domaine (domaine II) correspond à une augmentation de la pression de surface causée par l'apparition d'interactions entre les particules. La pression de surface atteint un premier plateau (domaine III), bien que la surface continue de diminuer. Dans le cas des molécules tensioactives, ce plateau correspond à la coexistence entre deux phases appelées liquide expansé et liquide condensé. On observe ensuite une nouvelle augmentation de la pression de surface (domaine IV) avant d'atteindre un second plateau (domaine V).

Afin d'obtenir des informations plus précises sur la conformation des microgels à l'interface, la pression de surface peut également être tracée en fonction de la distance interparticule. A partir de l'aire par particule estimée précédemment, nous avons calculé la distance centre-à-centre ( $d_{CC}$ ) en considérant que les microgels s'organisent de manière hexagonale, comme rapporté par Destribats *et al.*,<sup>22</sup> grâce à la formule suivante :

$$d_{CC} = \left( \frac{2a}{\sqrt{3}} \right)^{1/2} \quad (9)$$

où  $a$  est l'aire par particule. L'évolution de la pression de surface peut ainsi être tracée en fonction de la distance centre-à-centre  $d_{CC}$  des microgels (cf Figure III. 21).

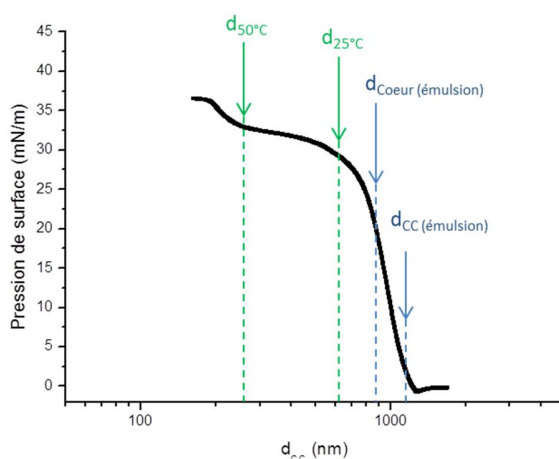


Figure III. 21 : Evolution de la pression de surface en fonction de la distance centre-à-centre entre les microgels Bis25. Les flèches indiquent les distances caractéristiques des microgels en solution (en vert) ou à l'interface (en bleu).

Les frontières entre les différents domaines sont à présent caractérisées par des distances centre à centre, notées  $d_{I-II}$ ,  $d_{II-III}$ ,  $d_{III-IV}$  et  $d_{IV-V}$  dans la suite de ce manuscrit, susceptibles de nous donner des informations sur la conformation des microgels à l'interface lors de la compression forcée. Sur la même courbe, les distances caractéristiques connues des microgels sont indiquées par des flèches. Ces distances sont :

- les diamètres hydrodynamiques en solution à 25 °C ( $d_{25^{\circ}\text{C}}$ ) et à 50 °C ( $d_{50^{\circ}\text{C}}$ ) mesurés par DLS
- La distance centre-à-centre des mêmes microgels dans le régime de coalescence limitée à la surface d'une goutte d'huile dans l'eau ( $d_{CC} \text{ (émulsion)}$ ), ainsi que le diamètre des cœurs mesurés par cryo-MEB par Destribats *et al.*<sup>22</sup>

D'après la Figure III. 21 nous constatons que la pression de surface commence à augmenter lorsque la distance entre les microgels est bien plus élevée que leur diamètre hydrodynamique à 25 °C. Cependant la valeur de  $d_{I-II}$  est très proche de  $d_{CC} \text{ (émulsion)}$ , ce qui semble indiquer que la pression de surface commence à augmenter lorsque les écorces des microgels sont en contact les unes avec les autres (cf Figure III. 22). Le domaine II correspond à des distances comparables au diamètre des cœurs déformés à l'interface ( $d_{\text{Coeur}} \text{ (émulsion)}$ ). Sur ce domaine la pression de surface augmente continuellement jusqu'à ce que la valeur de  $d_{CC}$  soit égale au diamètre hydrodynamique des microgels à 25 °C ( $d_{II-III} \approx d_{25^{\circ}\text{C}}$ ), avant d'atteindre un plateau.

Dans le domaine III la pression de surface est constante. Cela signifie soit que la densité de segments de polymère adsorbés à l'interface est constante, soit que deux phases ordonnées différentes coexistent. Dans le premier cas, une densité constante lors de la diminution de la surface implique la désorption de segments proportionnellement à la réduction de l'interface. Si deux phases coexistent, la première serait composée de microgels comprimés, où la distance centre-à-centre serait égale au diamètre hydrodynamique des microgels à 50 °C ( $d_{III-IV} \approx d_{50^{\circ}\text{C}}$ ). En revanche, dans la seconde phase, les microgels seraient moins comprimés et la distance interparticule correspondrait au diamètre hydrodynamique à 25 °C ( $d_{25^{\circ}\text{C}}$ ). Dans les deux cas, les microgels se déforment perpendiculairement à l'interface, ce qui provoque un épaissement du film adsorbés à l'interface comme représenté sur la Figure III. 22 . e et f.



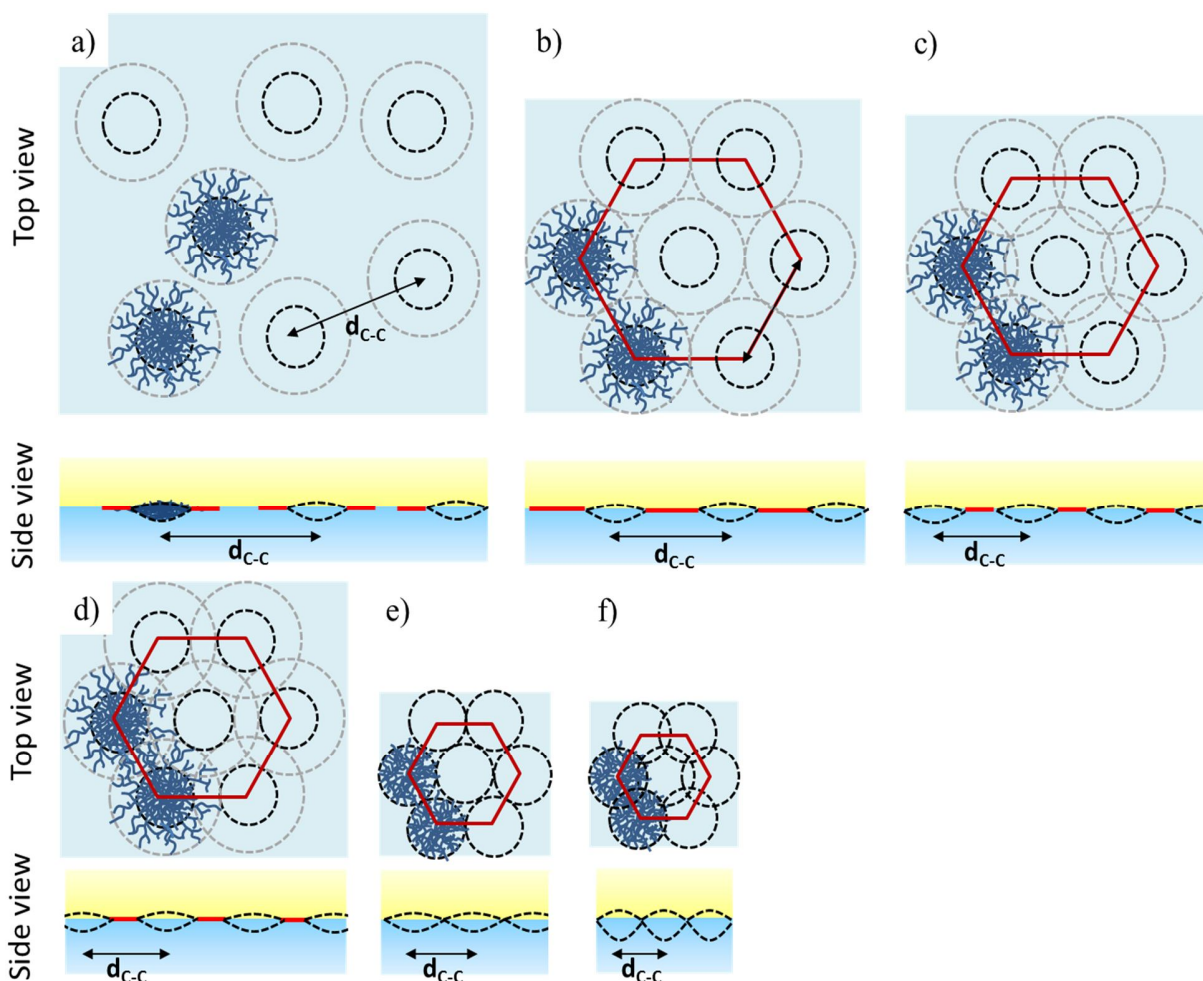


Figure III. 22 : Schéma représentatif des différentes configurations adoptées par les microgels dans les films de Langmuir vu par le dessus ou vu de profil. Les microgels représentés avec leur structure cœur-écorce (les microgels sont en bleu, les cœurs en noir et les écorces en gris). (a) Etat dilué, les microgels sont aléatoirement répartis à l'interface sans interaction, la pression de surface est donc nulle ; Les microgels sont déformés parallèlement à l'interface ; (b) à la transition entre le domaine I et II, les microgels s'organisent selon un arrangement hexagonal et les écorces se touchent ; la pression de surface commence à augmenter ; (c-d) les écorces commencent à se chevaucher et la pression de surface augmente ; la densité de segments de polymère adsorbée par unité de surface augmente (le nombre de segments est identique mais la surface diminue) ; (e) les cœurs commencent également à se chevaucher ; (f) les cœurs sont comprimés ce qui provoque l'épaississement du film de microgels ; l'augmentation de la pression de surface est plus lente car le nombre de segments adsorbés diminue.

Ainsi dans le domaine IV, la pression de surface augmente de nouveau lorsque tous les microgels sont contractés et ordonnés selon un arrangement hexagonal ( $d_{CC} = d_{III-IV} \approx d_{50\text{ }^{\circ}\text{C}}$ ). Dans cette configuration il est alors très difficile de comprimer davantage les microgels que ce soit mécaniquement ou sous l'effet de la température. La compressibilité maximum des microgels adsorbés est alors atteinte, et la désorption de l'interface, ou la formation de

multicouches, est plus favorable qu'une contraction supplémentaire. Le second plateau est alors interprété comme la désorption des microgels de l'interface provoquant la formation de multicouches ou le fléchissement du film de microgels sous l'effet de la compression. L'apparition d'une hystérèse importante, une fois ce plateau atteint lors des expériences de compression-expansion, est également une preuve de cette désorption. Dans cette partie nous avons mis en évidence que les microgels sont capables d'adapter leur conformation à l'interface sous compression forcée. Nous avons également réussi à corréler la pression de surface à la distance centre-à-centre des microgels (et donc à leur conformation à l'interface), d'un état où les microgels n'interagissent pas, jusqu'à la destruction du film provoquée par une compression trop importante.

### **II.2.2.3. Influence du taux de réticulation**

Nous avons également réalisé ces mêmes expériences avec les autres échantillons de microgels qui possèdent différents taux de réticulation (cf Figure III. 23). Toutes les isothermes réalisées ont la même allure et se composent de cinq domaines différents comme pour les microgels Bis25. L'interprétation que nous avons donnée est donc généralisable pour tous les échantillons quel que soit le taux de réticulation. Dans le régime des faibles taux de compression ( $d_{CC}$  élevées), les transitions entre les domaines ont lieu pour les mêmes valeurs de  $d_{CC}$ , ce qui n'est pas le cas pour des taux de compression élevés. Nous pouvons en déduire que l'organisation des microgels ne change pas en fonction du taux de réticulation dans le domaine des faibles compressions. Ces résultats sont en accord avec ceux établis dans le cadre des émulsions préparées par coalescence limitée. En effet, les microgels sont aplatis et forment un réseau hexagonal, dont le paramètre de maille ne dépend pas du taux de réticulation.<sup>22</sup> Cette valeur est quasiment identique à celle obtenue dans les films de Langmuir. Les transitions entre les domaines III, IV et V sont décalées vers des distances plus élevées lorsque le pourcentage molaire de réticulant augmente. Les microgels les plus réticulés, et plus particulièrement leur cœur, sont beaucoup moins déformables et compressibles. Ces premières expériences nous ont donc permis de mettre en évidence que le taux de réticulation affecte la capacité des microgels à se déformer. Leur adsorption spontanée à l'interface eau/huile, ainsi que les propriétés élastiques, sont susceptibles d'être affectées.

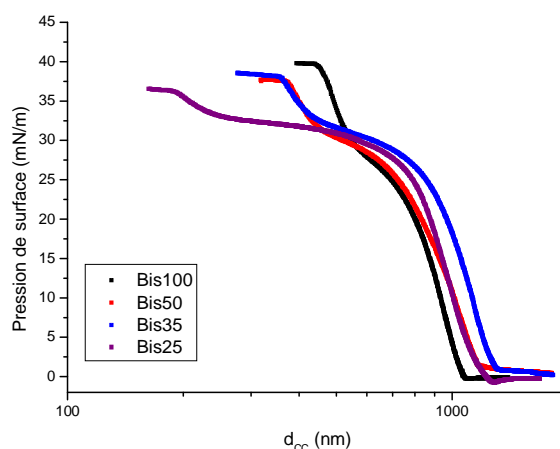


Figure III. 23 : Influence du taux de réticulation sur les courbes de compression forcée. Evolution de la pression de surface en fonction de la distance centre-à-centre entre les microgels à l'interface. Les pourcentages molaires des microgels sont 10 % (■), 5 % (■), 3,5 % (■) et 2,5 % (■).

## II.2.3. Adsorption spontanée des microgels : étude en goutte pendante

L'objectif de cette partie est de déterminer la conformation des microgels à l'interface lorsqu'ils s'adsorbent spontanément à l'interface eau/huile et de sonder les propriétés élastiques qui en découlent. Pour cela, la tension de surface d'une goutte de solution de microgels dans une phase huile est mesurée au cours du temps par la méthode de la goutte pendante. Les propriétés élastiques sont ensuite étudiées par rhéologie dilatationnelle.

### II.2.3.1. Influence de la concentration en microgels

En premier lieu nous avons étudié l'adsorption spontanée des microgels Bis25 dans différentes conditions de concentration (cf Figure III. 24. a). Sans microgel, la tension de surface eau/dodécane mesurée est de 53 mN/m conformément à la valeur rapportée dans la littérature.<sup>31</sup> En revanche, la présence de microgels à une concentration suffisamment élevée ( $C > 0,01$  % massique) entraîne la diminution de la tension de surface au cours du temps jusqu'à atteindre une valeur plateau de 17 mN/m, quelle que soit la concentration initiale en microgels. En règle générale, les études de l'adsorption spontanée de particules rapportent que la valeur finale diminue lorsque la concentration augmente à l'interface eau/air,<sup>32</sup> eau/huile,<sup>33</sup> et

huile/huile.<sup>34</sup> Cette indépendance de la valeur finale de la tension de surface avec la concentration est souvent observée avec les polymères linéaires de poly(NIPAM),<sup>15,16,35</sup> ainsi qu'avec des peptides.<sup>36</sup> Cependant, bien que la concentration n'ait pas d'influence sur la valeur finale de la tension de surface, elle permet de moduler la cinétique du phénomène. En effet, lorsque la concentration en microgels augmente, le plateau est atteint plus rapidement, ce qui est caractéristique d'un phénomène d'adsorption spontanée. Bien que la tension de surface finale ne soit pas aussi faible que celle mesurée avec des tensioactifs (quelques mN/m), la diminution est suffisamment importante pour être significative.

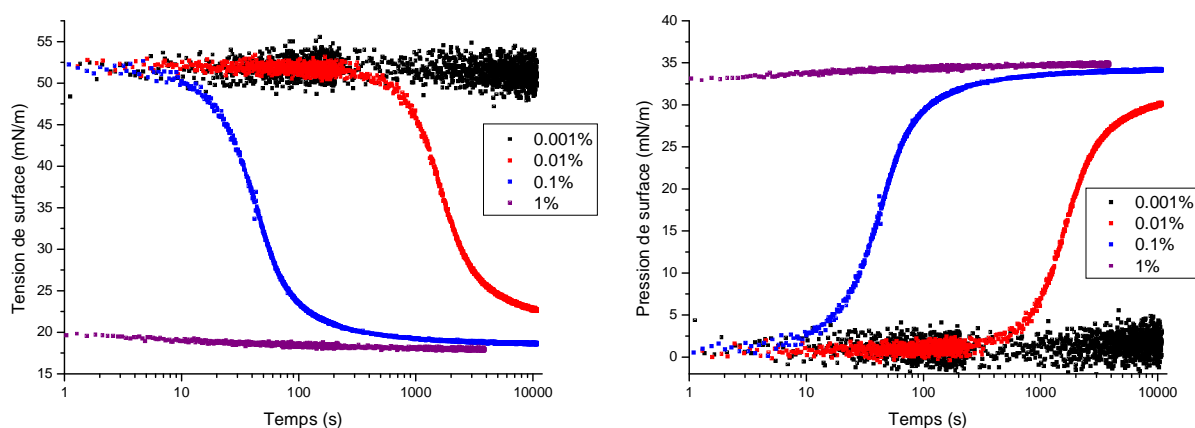


Figure III. 24 : Evolution de a) la tension de surface et b) de la pression de surface en fonction du temps pour différentes concentrations massiques de microgels Bis25.

A partir de l'évolution de la tension de surface en fonction du temps, nous pouvons calculer et tracer l'évolution de la pression de surface au cours du temps grâce à la relation suivante :

$$\pi(t) = \gamma_0 - \gamma(t) \quad (10)$$

où  $\gamma_0$  est la tension de surface de l'interface eau/dodécane en l'absence de microgel (53 mN/m). L'évolution de la pression de surface en fonction du temps est représentée Figure III. 24. b. Lorsque le plateau est atteint, la valeur de la pression de surface est de 35 mN/m. En comparant cette valeur aux résultats obtenus lors des expériences de compression forcée (cf Figure III. 20. b), nous pouvons en déduire que lorsque l'état d'équilibre est atteint, la conformation des

microgels est identique à celle correspondant au domaine III des isothermes. En d'autres termes, les microgels sont capables de s'adsorber spontanément dans un état comprimé impliquant une déformation perpendiculaire à l'interface.

### II.2.3.2. Influence du taux de réticulation

Nous avons également vérifié que le comportement des microgels plus réticulés est similaire à celui des microgels Bis25. Pour cela, nous avons choisi de reproduire les mêmes expériences en utilisant l'échantillon Bis50. Les résultats sont présentés Figure III. 25.

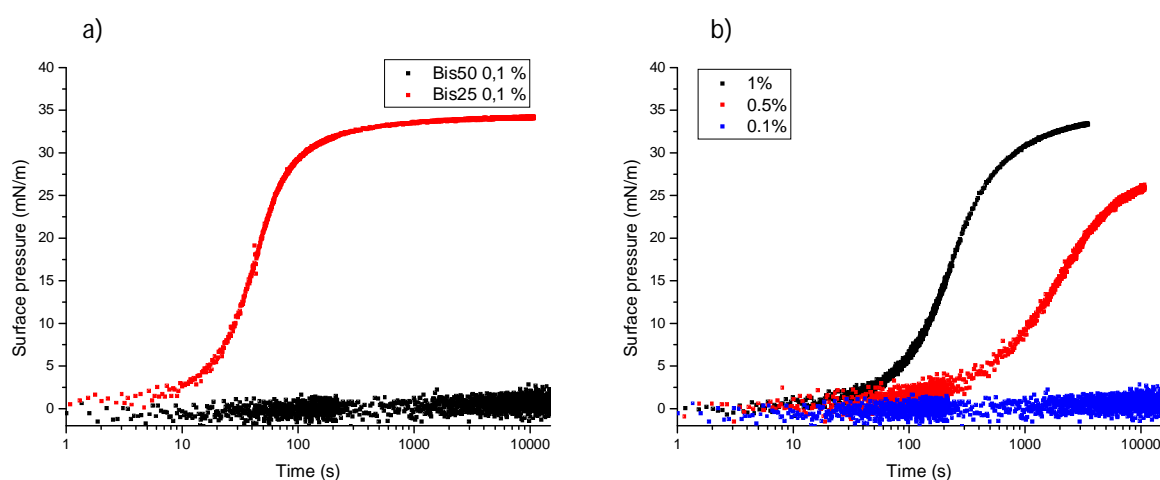


Figure III. 25 : a) Evolution de la pression de surface en fonction du temps pour les microgels Bis50 (■) et Bis25 (■). b) Influence de la concentration massique de microgels Bis50 sur l'évolution de la pression de surface dynamique.

L'évolution de la tension de surface en fonction du temps a la même allure que celle des microgels Bis25. On observe une diminution de la tension de surface, puis elle se stabilise pour atteindre une valeur plateau. Cependant pour une même concentration massique, la cinétique d'adsorption des microgels est beaucoup plus lente avec les microgels les plus réticulés (cf Figure III. 25. a). Ce phénomène a déjà été rapporté par Zhang *et al.* ainsi que par l'équipe de Ngai.<sup>37</sup> Selon ces études, il aurait pour origine la différence de déformabilité entre les deux échantillons de microgels. L'adsorption est gouvernée par deux phénomènes différents. Le premier est la diffusion des microgels vers l'interface qui dépend du diamètre hydrodynamique.

Plus ce dernier est faible plus les microgels diffusent rapidement. Le second est la capacité du microgel à se déformer à l'interface, ce qui met en jeu la mobilité des chaînes. L'augmentation de la réticulation et la contraction des microgels sont défavorables à une bonne mobilité.

La diminution de la concentration provoque également une diminution de la cinétique. Avec cet échantillon, aucune évolution de la tension de surface n'est constatée sur une durée de 3 h lorsque  $C < 0,1$  % massique. Bien que le plateau ne soit pas observé, l'allure des courbes indique que la valeur de la tension de surface à l'équilibre est la même que pour les microgels moins réticulés. Ainsi, ces microgels ont également la capacité de s'adsorber spontanément à l'interface eau/huile dans une conformation où les microgels sont comprimés et non étalés, contrairement à ce qui a été observé jusqu'ici à la surface des émulsions.

L'évolution de la tension de surface en fonction du temps, l'influence de la concentration et du taux de réticulation prouvent que les microgels sont capables de s'adsorber spontanément à l'interface eau/huile. En comparant la valeur d'équilibre aux résultats des expériences de compression forcée, il semblerait que les microgels s'adsorbent spontanément dans un état comprimé. Ces résultats seront commentés plus en détail dans la partie discussion de ce chapitre.

## **II.2.4. Etude des propriétés mécaniques des interfaces par rhéologie dilatationnelle**

### **II.2.4.1. Etude en fonction du temps**

Nous souhaitons à travers cette étude établir un lien entre l'élasticité de surface conférée par les microgels adsorbés à l'interface et leurs différentes conformations possibles. Pour cela, nous allons tirer avantage de l'évolution de la tension de surface, ou de la pression de surface, au cours du temps. La mesure des propriétés viscoélastiques à différents temps permet de les mesurer pour différentes valeurs de pression de surface et donc différentes conformations des microgels. Quelle que soit la concentration en microgels, ou le taux de réticulation, le même domaine de pression de surface est accessible, mais avec des cinétiques différentes. Pour les microgels Bis25 à 1 % massique, la cinétique est trop rapide, la mesure des propriétés viscoélastiques dans différentes conformations, n'est donc pas possible. Cependant lorsque la

concentration est diminuée à 0,01 % massique, la cinétique est beaucoup plus favorable. L'élasticité dilatationnelle est alors mesurée en faisant osciller la surface de la goutte de solution formée dans le dodécane après des temps d'attente différents. La durée des oscillations est courte par rapport à la cinétique d'adsorption. La même expérience est effectuée sur l'échantillon plus réticulé, en choisissant différentes concentrations en microgels. Les résultats obtenus pour les microgels Bis25 et Bis 50 sont présentés Figure III. 26.

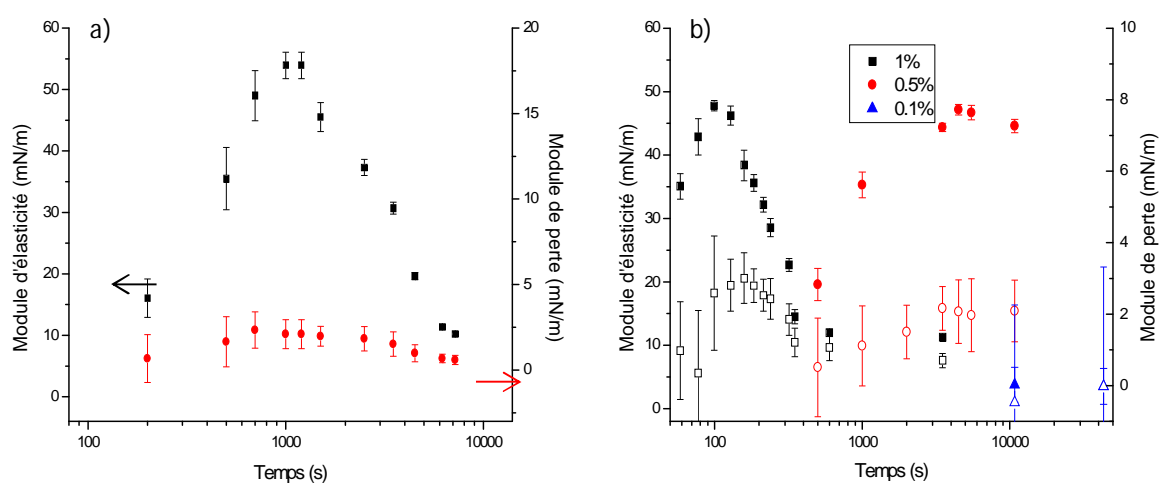


Figure III. 26 : Evolution du module d'élasticité (■), et du module de perte (●), en fonction du temps pour les microgels Bis25 à une concentration de 0,01 % massique et b) évolution du module d'élasticité (symbole plein) et du module de perte (symboles vides) pour les microgels Bis 50 à différentes concentrations.

D'après ces résultats, le film de microgels adsorbé à l'interface se comporte comme un solide puisque le module d'élasticité est dix fois plus élevé que le module de perte. Nous remarquons également que l'évolution du module élastique n'est pas monotone en fonction du temps. Il passe par un maximum avant de diminuer à nouveau et de se stabiliser à une valeur de 10 mN/m, et ce pour les deux échantillons.

#### II.2.4.2. Propriétés mécaniques en fonction de l'organisation du film

Précédemment, nous avons mesuré l'évolution de la tension de surface en fonction du temps, nous pouvons alors tracer l'évolution du module élastique en fonction de la tension de

surface ou de la pression de surface, puisque ces deux dernières valeurs sont liées par l'équation (10) de ce chapitre (cf Figure III. 27. a). Les échantillons de Bis25 et de Bis50 ayant des cinétiques d'adsorption différentes, cette représentation nous permet de comparer les deux échantillons et d'apprécier l'effet du taux de réticulation sur le module élastique. Les valeurs maximum de l'élasticité de surface sont quasiment identiques ( $\approx 50$  mN/m) pour une pression de surface comprise entre 10 et 20 mN/m pour les deux taux de réticulation. En s'appuyant sur les courbes de compression de chaque échantillon, nous pouvons convertir la pression de surface en distance centre-à-centre entre les microgels, afin de pouvoir faire le lien entre les propriétés élastiques et la conformation des microgels à l'interface (cf Figure III. 27. b).

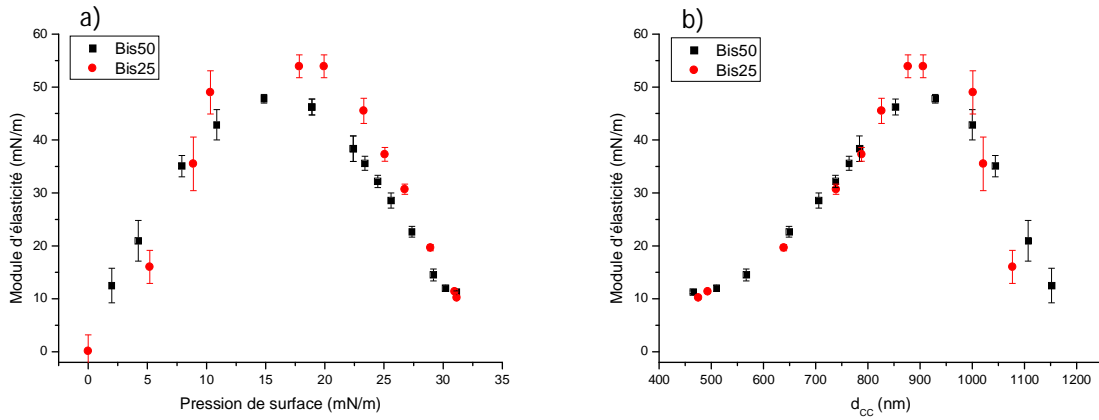


Figure III. 27 : Evolution du module d'élasticité en fonction de (a) la pression de surface et (b) la distance centre-à-centre des microgels (■) Bis50 à une concentration de 1 % et 0,5 % massique et des microgels (●) Bis 25 à une concentration de 0,01 % massique.

Selon cette dernière représentation, le module élastique est maximum lorsque la distance centre-à-centre est comprise entre 800 et 1000 nm. Selon l'interprétation que nous avons faite des isothermes de compression, cela correspond à la conformation où les microgels sont déformés parallèlement à l'interface (conformation aplatie) et les écorces sont enchevêtrées.

Parallèlement, l'élasticité de surface peut également être directement extraite de l'isotherme de compression. Elle est calculée grâce à la formule suivante :

$$E = - \frac{d\pi}{dLna} \quad (11)$$



où  $a$  est la surface par particule.

De cette manière nous pouvons également calculer et tracer le module élastique à partir des expériences de compression forcée. Les courbes sont présentées Figure III. 28.

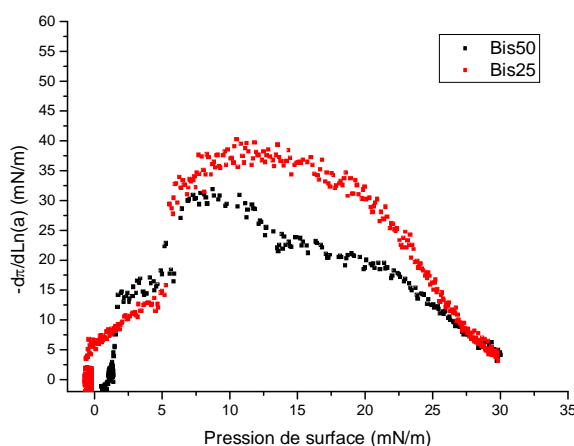


Figure III. 28 : Elasticité de surface calculée à partir des isothermes de compression pour les microgels (■) Bis50 et (●) Bis25.

Cette analyse met également en évidence que quel que soit le taux de réticulation, la valeur maximum du module élastique est la même et apparaît sur le même domaine de pression de surface.

### II.2.5. Discussion

Nous allons à présent comparer les résultats obtenus avec les trois techniques présentées, afin de faire le lien entre l'élasticité et la conformation adoptée par les microgels à l'interface eau/huile. Puis nous comparerons le comportement des microgels à l'interface avec celui d'autres espèces adsorbées.

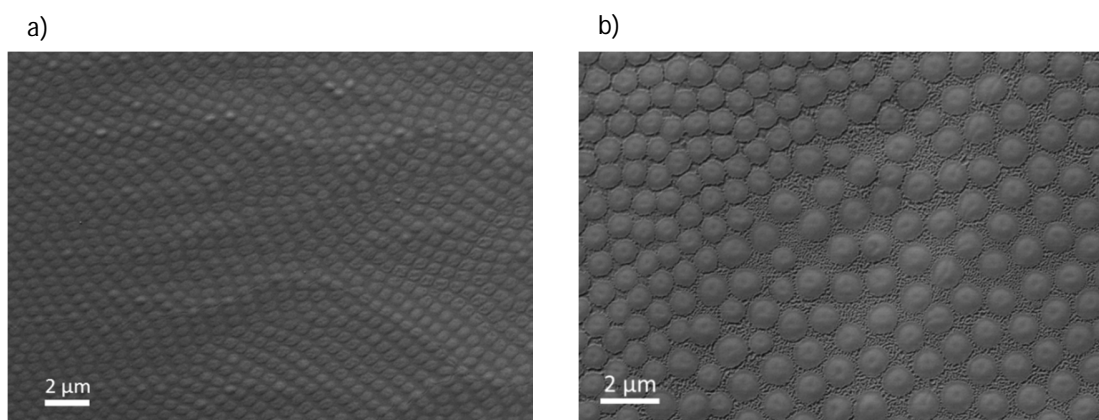
#### II.2.5.1. Adsorption spontanée et conformation des microgels

D'après les expériences de tension de surface dynamique nous avons déduit que les microgels s'adsorbent spontanément dans un état comprimé. De ce fait, les pressions de surface mesurées par compression forcée ou par la méthode de la goutte pendante sont comparables

uniquement jusqu'au domaine III défini sur la Figure III. 20. a. Lorsque la pression de surface est faible, l'élasticité est également faible, car les microgels sont trop éloignés pour interagir. L'élasticité augmente lorsque les écorces se touchent et s'interpénètrent, formant ainsi un réseau bidimensionnel (domaine II). Le module d'élasticité atteint son maximum lorsque les cœurs, qui sont moins déformables, sont en contact et commencent à être comprimés les uns contre les autres. Par la suite, la perte de l'élasticité est provoquée par la déformation perpendiculaire à l'interface des microgels, entraînant la désorption de segments polymères (Domaine III).

La seconde transition (domaine IV et V) n'est pas atteinte en adsorption spontanée. Cette seconde transition dépend du taux de réticulation. L'organisation des microgels n'est pas élucidée à ce jour et fait l'objet d'études complémentaires en imagerie (notamment par AFM sur des films de Langmuir transférés sur substrat solide par l'équipe de L. Isa).

Le fait que les microgels puissent s'adsorber spontanément dans un état comprimé est relativement surprenant, car cela révèle l'existence d'interactions attractives à l'interface. Dans le but de vérifier que les microgels puissent s'adsorber dans une telle conformation, une interface plane est imagée par FreSCa cryo-SEM par l'équipe de Zurich. La distance centre-à-centre qui est mesurée à partir des clichés est de 540 nm sur la Figure III. 29. a, ce qui est inférieur au diamètre hydrodynamique des microgels en solution à 25 °C. Ce résultat prouve que les microgels ont bien la capacité de s'adsorber dans une conformation comprimée à l'interface et de former ainsi un film de microgels dense.



*Figure III. 29 : Adsorption spontanée à une interface eau/décane plane visualisée par FreSCa cryo-SEM des microgels Bis50 à une concentration de 0,3 % massique. L'image (a) est le film dense de microgels où ils sont comprimés et l'image (b) montre la coexistence de deux domaines différents. En bas à droite de l'image la distance centre-à-centre mesurée est de 1 100 nm : les*

*microgels sont aplatis et les écorces ne se touchent pas. En haut à gauche de l'image la distance est de 860 nm et les microgels sont un peu plus comprimés.*

La seconde image présentée Figure III. 29. b permet de visualiser la coexistence de deux conformations différentes à un temps donné. Dans le coin en bas à droite de l'image, les écorces des microgels ne s'enchevêtrent pas et les microgels sont aplatis ( $d_{CC} = 1\ 100\text{ nm}$ ), alors que dans le coin en haut à gauche la couche est plus dense, les écorces s'enchevêtrent et sont comprimées ( $d_{CC} = 860\text{ nm}$ ).

### II.2.5.2. Comparaison entre l'organisation des microgels à une interface plane et à l'interface d'émulsions

Grâce à l'équation (9) nous avons pu déterminer les distances centre-à-centre, caractéristiques des différentes transitions, pour tous les échantillons de microgels. Ces distances sont comparées à celles mesurées par Destribats *et al.* à partir des clichés de cryo-MEB sur des microgels de composition identique et dont le diamètre est proche de ceux que nous avons étudiés.<sup>22</sup>

Tableau III. 2 : Comparaisons des distances centre-à-centre mesurées par cryo-MEB et celles calculées.

Echantillon	$d_{CC}$ mesuré par destribats <i>et al.</i> <sup>22</sup> (nm)	$d_{Coeur}$ mesuré par destribats <i>et al.</i> <sup>22</sup> (nm)	$d_{I-II}$ (nm)
Bis25	1068	921	1345
Bis35	1131	942	1236

Les valeurs que nous avons déterminées grâce aux expériences de Langmuir-Blodgett sont très proches de la distance centre-à-centre des microgels adsorbés à la surface d'émulsions de Pickering stables. Cela confirme l'hypothèse que les émulsions sont stables dès que les microgels aplatis commencent à interagir entre eux. Cela se produit quand les écorces entrent en contact.

Nous pouvons également comparer la morphologie des microgels adsorbés à des interfaces modèles à celles rapportées par Destribats *et al.* à la surface de gouttes d'huile dans les émulsions. Il est très surprenant que les microgels s'adsorbent spontanément dans un état

comprimé alors qu'ils sont aplatis à la surface de gouttes d'huile. Les principales différences entre les deux techniques sont l'apport d'énergie nécessaire pour former l'émulsion et la concentration en microgels. En effet, les émulsions sont préparées dans le régime de coalescence limitée, ce qui signifie que les microgels sont en défaut par rapport à la quantité d'interface créée lors de l'émulsification. Les gouttes d'huile coalescent jusqu'à ce que l'interface soit suffisamment protégée, ce qui se produit lorsqu'on atteint une monocouche hexagonale constituée de microgels aplatis. Cela signifie que cette conformation est suffisante pour stabiliser durablement les émulsions. Ce cas correspond à l'élasticité dilatationnelle de surface relativement faible mais non nulle. Lorsque le phénomène de coalescence est stoppé, il ne reste plus de particule en suspension dans la phase aqueuse. Au contraire, lors des expériences de la goutte pendante, un large excès de microgels demeure dans la phase aqueuse après l'adsorption de la monocouche de microgels. Ces microgels sont susceptibles de s'adsorber dans un second temps, afin d'augmenter le nombre de segments polymères adsorbés à l'interface et d'abaisser l'énergie du système. L'adsorption spontanée s'arrête lorsque le gain d'énergie est plus faible que celui nécessaire à la particule pour comprimer un peu plus la monocouche, comme observé récemment par Zell *et al.* avec des nanoparticules cœur-écorce.<sup>38</sup>

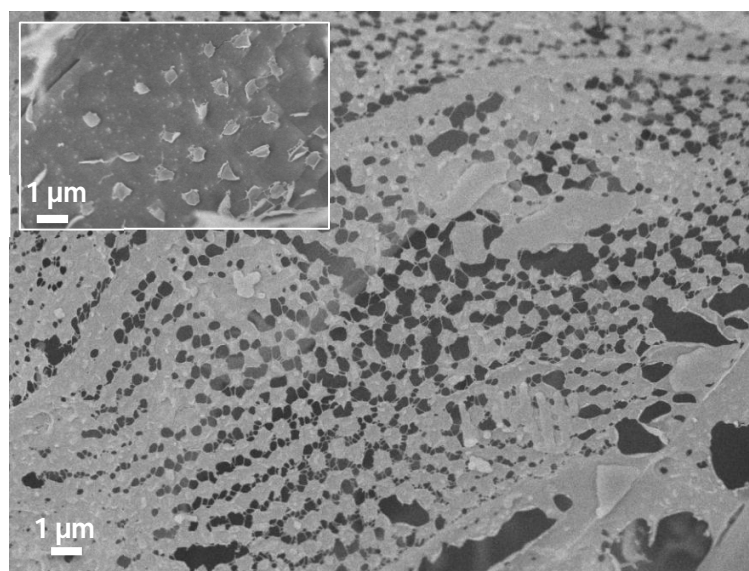


Figure III. 30 : Influence de l'incubation d'une émulsion dans une solution concentrée de microgels Bis25. Les images sont obtenues par cryo-MEB, après sublimation partielle de la phase huile pour une meilleure visualisation. Les microgels apparaissent plus petits que leur taille initiale, car ils sont partiellement déshydratés, cependant la distance centre-à-centre est la même qu'avant sublimation. L'encadré en haut à gauche est une image d'une émulsion en l'absence d'un excès de microgels et la seconde image est la surface d'une émulsion préparée dans les conditions de coalescence limitée puis incubée 5 jours dans une solution de microgels concentrés.

Nous souhaitons alors vérifier que la conformation aplatie des microgels à la surface des émulsions peut évoluer spontanément en présence d'un excès de microgels dans la phase continue. Pour cela, nous avons préparé une émulsion dans les conditions de coalescence limitée. Lorsque tous les microgels sont adsorbés et que l'émulsion est stable, la phase continue est retirée pour être remplacée par une solution de microgels à 1 % massique. Afin de comparer la morphologie des microgels, l'émulsion est imagée avant et après incubation dans la solution de microgels (cf Figure III. 30). La distance centre-à-centre mesurée à partir des images de cryo-MEB sans incubation est plus grande que le diamètre hydrodynamique des microgels en solution à 25 °C ( $d_{CC}/d_{25^{\circ}C} = 1,58$ ), alors qu'après 5 jours d'incubation elle est inférieure au diamètre hydrodynamique. Le ratio entre  $d_{CC}$  et  $d_{25^{\circ}C}$  est de 0,96. Associé à ce changement de conformation, on note également une modification des propriétés macroscopiques des émulsions. Juste après émulsification, l'émulsion est très floculée alors qu'elle ne l'est plus après incubation (cf Figure III. 31).

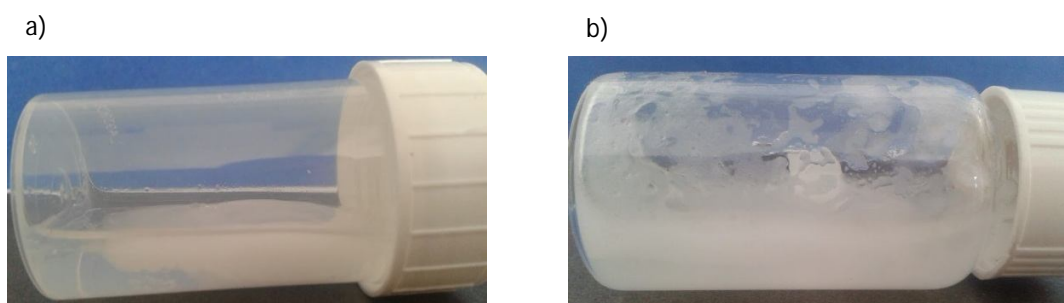


Figure III. 31 : Vue macroscopique des émulsions (a) sans incubation ou (b) après 5 jours d'incubation permettant d'apprécier l'évolution des propriétés d'écoulement de l'émulsion.

Ces observations sont en accord avec celles rapportées par Destribat *et al.*<sup>22,24,25,28,39</sup> La conformation aplatie favorise le pontage entre gouttes, contrairement à la conformation comprimée qui stabilise les gouttes libres.<sup>4</sup> L'adsorption spontanée des microgels à l'interface d'émulsions dans une conformation comprimée est également possible, ce qui met en évidence la présence d'interactions attractives entre les microgels. Cette attraction peut provenir d'une meilleure affinité polymère/polymère des chaînes en mauvais solvant à l'interface. La défloculation des émulsions nécessite également que les microgels se désorbent spontanément

de l'une des deux gouttes d'huile, ce qui peut arriver lors d'un changement de conformation, comme dans le cas des protéines.

L'émulsion peut également être préparée en présence d'un excès de microgels dans la phase aqueuse. Cette méthode est moins efficace que l'incubation pour obtenir un film dense de microgels à l'interface, car les images de cryo-MEB ont révélé la coexistence de deux domaines de compacités différentes à la surface des gouttes (cf Figure III. 32). Cette observation permet de confirmer que le comportement des microgels est semblable aux interfaces modèles et à la surface de gouttes. Elle met en relief l'importance de la concentration en microgels sur les propriétés finales de l'émulsion.

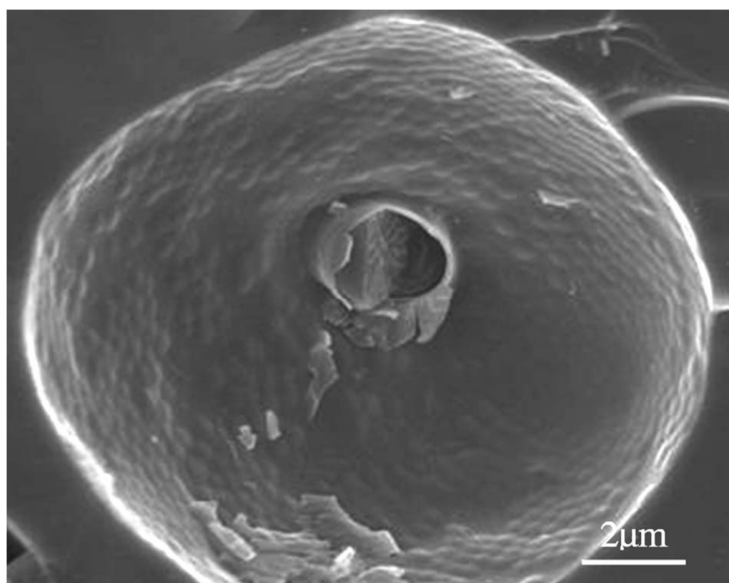


Figure III. 32 : Cliché cryo-MEB d'une émulsion préparée avec des microgels Bis25 à une concentration de 1% massique.

### II.2.5.3. Comparaison de l'adsorption des microgels à d'autres espèces

Il est également intéressant de comparer les propriétés des microgels à l'interface avec celles des tensioactifs, des particules solides, des polymères linéaires ou encore des protéines. Contrairement aux molécules tensioactives, il n'existe pas d'équilibre dynamique entre les particules adsorbées à l'interface et celles en solution. Une fois adsorbées, l'énergie à vaincre

pour se désorber spontanément est trop importante. Aucun échange entre la solution et l'interface n'est donc possible. Les microgels se comportent différemment des particules solides, car ils ont la capacité de se déformer et d'adapter leur conformation. De plus, les particules solides ont la capacité de se réarranger très rapidement, ce qui permet à la monocouche de se réparer lorsqu'elle se rompt.<sup>32,40,41</sup> Bien que les microgels se comportent différemment des molécules tensioactives et des particules solides, ils ont de nombreuses similitudes avec les polymères linéaires et les protéines.

#### *Comparaison avec l'adsorption de polymères linéaires (amphiphiles)*

Les études de polymères de poly(NIPAM) offrent de nombreuses données que nous pouvons comparer avec les nôtres. Les groupements hydrophobes des polymères linéaires de poly(NIPAM), qui sont responsables de leur comportement en solution en fonction de la température, sont également le paramètre clef qui facilite leur adsorption à une interface (eau/air ou eau/huile). La plupart des travaux ont pour but d'étudier l'influence de la température sur l'adsorption spontanée à l'interface,<sup>15,42-44</sup> l'épaisseur du film de polymères,<sup>35,45</sup> la rhéologie classique<sup>46</sup> et la rhéologie dilatationnelle.<sup>47</sup> A l'interface eau/air, les polymères linéaires s'adsorbent provoquant la diminution de la tension de surface de 72 mN/m jusqu'à environ 40 mN/m, ce qui correspond à une pression de surface de 32 mN/m. Cette valeur est très proche de celle rapportée à l'interface eau/huile en présence de microgels et de celle que nous avons mesurée au cours de ces travaux.<sup>13,20</sup> Nous remarquons également que les propriétés des microgels de poly(NIPAM) adsorbés à l'interface et celles de leurs homologues linéaires sont très similaires. Notamment, les similitudes entre les propriétés d'élasticité dilatationnelle sont réellement saisissantes.<sup>47</sup> Les auteurs ont mesuré le module d'élasticité dilatationnelle de solutions de polymères linéaires de poly(NIPAM) en fonction du temps et de la concentration en polymère (cf Figure III. 33).

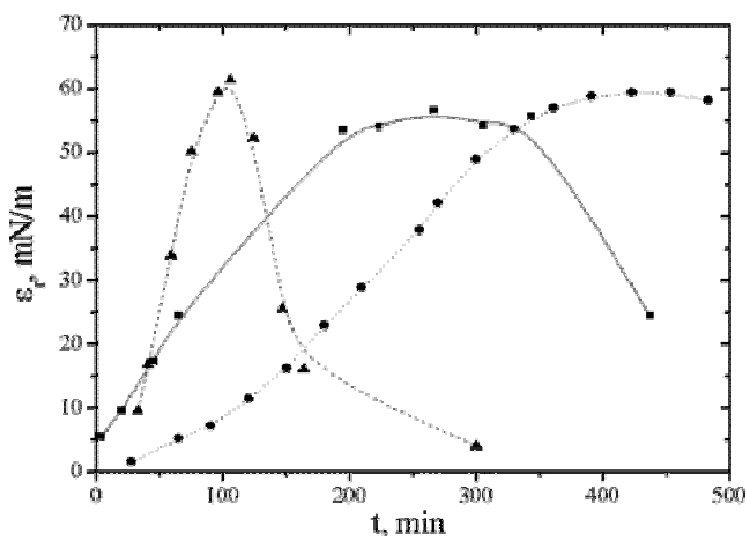


Figure III. 33 : Evolution du module élastique dilatationnel en fonction du temps de poly(NIPAM) linéaire à une concentration de 0,000009 % massique (●), 0,0000114 % massique (■) et 0,0001 % massique (▲). Adapté de <sup>47</sup>.

Lorsque la concentration est faible (de  $10^{-9}$  à  $10^{-4}$  % massique), l'évolution du module élastique en fonction du temps n'est pas monotone. Comme pour les microgels, ce module passe par un maximum à un temps donné lors de l'adsorption spontanée. Dans le but de recueillir des informations sur l'organisation des polymères, les auteurs ont mesuré par ellipsométrie l'épaisseur du film lors de l'adsorption. Aux temps courts, les chaînes polymères s'adsorbent individuellement à l'interface où elles « s'étalent » et restent suffisamment éloignées pour ne pas interagir. Par la suite, de plus en plus de chaînes s'adsorbent jusqu'à ce qu'elles soient confinées stériquement. A partir de cet état, des segments de polymères se désorbent de l'interface et protubèrent dans la phase aqueuse pour former des boucles. Le maximum d'élasticité correspond au maximum de segments adsorbés, en absence de boucles. En présence de boucles, lors des cycles de compression-dilatation, des segments de polymères sont échangés entre l'interface et la phase aqueuse permettant ainsi de dissiper une partie des contraintes.

Ce comportement n'est pas spécifique des polymères de poly(NIPAM), d'autres polymères amphiphiles ont également les mêmes propriétés, comme le poly(vinylpyrrolidone) ou le poly(éthylène glycol).<sup>48</sup> Cependant le maximum du module d'élasticité mesuré du



poly(NIPAM) est le plus élevé et vaut 60 mN/m, ce qui est très proche du maximum mesuré lors de nos expériences (55 mN/m).

Grâce à l'organisation des microgels, nous pouvons en déduire la distance centre-à-centre des microgels et ainsi suivre indirectement l'évolution de l'épaisseur de la monocouche. Nous avons pu établir que l'élasticité diminue lorsque la distance centre-à-centre est inférieure à 800 nm (cf Figure III. 27. b). D'après les courbes de compression forcée (cf Figure III. 20. b), la pression de surface est presque constante en dessous de cette valeur de  $d_{CC}$  à cause de la désorption de segments polymère. Ainsi, la diminution du module élastique des microgels à l'interface est également corrélée à l'épaississement de la monocouche lorsque les microgels se déforment perpendiculairement à l'interface (cf Figure III. 22. f). En conclusion les microgels se comportent à l'interface de la même manière que les polymères linéaires de poly(NIPAM) lors de leur adsorption spontanée. La présence de nœuds de réticulation ne semble pas avoir d'impact sur les propriétés mécaniques du film lorsque la pression de surface n'est pas très élevée ( $< 32$  mN/m domaine III).

#### *Comparaison avec l'adsorption de protéines*

Les protéines ont également un comportement très proche de celui des microgels. Par exemple, Freer *et al.* ont étudié les propriétés élastiques d'une interface eau/héxadecane recouverte de protéines globulaires (lysozyme) ou de protéines flexibles (caséine  $\beta$ ).<sup>49,50</sup> Dans les deux cas, le module élastique atteint un maximum en fonction de la pression de surface. En ce qui concerne la caséine  $\beta$ , qui est une protéine flexible, la valeur du module élastique est maximum (40 mN/m) lorsque les segments hydrophiles de la chaîne forment des boucles dans la phase aqueuse (cf Figure III. 34).

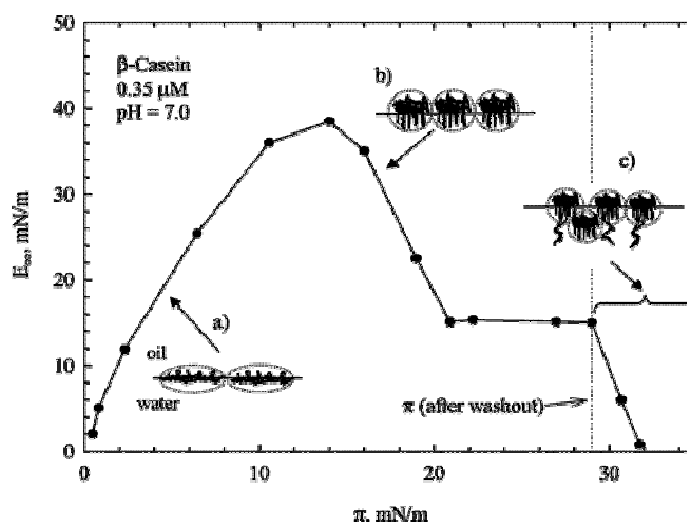


Figure III. 34 : Evolution du module d'élasticité dilatationnelle en fonction de la pression de surface de la caséine  $\beta$  à une concentration de 5 mg/mL dans une solution de tampon phosphate 100 mM pH 7. Adapté de <sup>50</sup>.

Quelques années plus tard, la même conclusion est rapportée par Noskov *et al.*<sup>51</sup> Au-delà d'une pression de surface de 29 mN/m, les protéines sont comprimées, puis expulsées dans la phase aqueuse, entraînant la rupture du film adsorbé à l'interface. Pour le lysozyme, les auteurs rapportent que les protéines s'adsorbent dans un premier temps en conservant leur morphologie globulaire. Le module élastique augmente avec la quantité de protéines adsorbées à l'interface jusqu'à atteindre 78 mN/m. Ce module élevé est dû à la rigidité de la protéine conférée par la présence de ponts disulfure et d'interactions hydrophobes. La diminution de l'élasticité a pour origine un changement de conformation des protéines qui se « déplient » partiellement à l'interface, entraînant une diminution de la rigidité de la molécule.<sup>49,50</sup> Contrairement à la caséine  $\beta$ , la rupture du film n'est pas observée, car les protéines de lysozyme sont plus ancrées à l'interface à cause des interactions défavorables entre les groupements hydrophobes et la phase aqueuse. Plus récemment Noskov *et al.* ont mis en évidence l'impact de la dénaturation d'une protéine globulaire (albumine de sérum bovin) à l'interface sur les propriétés élastiques. Ils observent que le maximum d'élasticité apparaît uniquement en présence d'un dénaturant de protéines qui leur permet de s'adsorber et de se « déplier » rapidement à l'interface.

Nous pouvons donc en conclure que les particules molles, comme les microgels, ont des caractéristiques communes avec les protéines flexibles et les protéines globulaires qui sont

capables d'adapter leur conformation à l'interface. Grâce à leur déformabilité, les microgels peuvent former des boucles dans la phase aqueuse et changer de conformation.

Bien que pour les faibles valeurs de pression de surface le taux de réticulation n'ait pas d'impact sur les propriétés élastiques, ce n'est plus vrai pour les forts taux de compression (domaine IV et V). Plus le taux de réticulation augmente, plus ces domaines ont lieu pour des distances centre-à-centre élevées. Ce phénomène témoigne d'une diminution de la compressibilité du film lorsque le taux de réticulation augmente. Ces deux derniers domaines n'ont jamais été observés pour des expériences de compression forcée avec les polymères linéaires.

## Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons pu mettre en évidence que les microgels sont capables de s'adsorber de manière quasi-irréversible à la surface d'interfaces modèles. De plus, lorsque les microgels sont présents en excès, ils sont capables de se comprimer à l'interface. Leurs propriétés à l'interface diffèrent de celles des particules solides, mais sont très similaires à celles des polymères linéaires et des protéines qui sont capables de changer de conformation à l'interface. Nous avons pu observer que le taux de réticulation n'a pas d'impact sur les propriétés mécaniques lors de l'adsorption spontanée. Seule la cinétique d'adsorption est modifiée. La réticulation a un impact dans les domaines des forts taux de compression accessibles uniquement mécaniquement (compression forcée). D'autres analyses complémentaires sont envisagées afin de mieux comprendre l'effet de la réticulation sur les propriétés viscoélastiques et sur l'organisation des microgels à l'interface. Par exemple, des expériences de FreSCa sont prévues sur des films de Langmuir prélevés à différentes pressions de surface. Des expériences de rhéologie 2D en cisaillement sont également susceptibles de nous apporter plus d'informations sur la contribution de l'enchevêtrement des écorces et de la réticulation chimique.<sup>52,53</sup> L'étude de microgels chargés en compression forcée est aussi envisagée afin de comprendre l'influence des charges sur leurs propriétés à l'interface.

En ce qui concerne les émulsions de Pickering, les microgels sont aplatis et protègent l'émulsion du phénomène de coalescence lorsqu'ils sont en défaut par rapport à la quantité d'interface créée. La stabilisation des émulsions par les microgels ne requiert ni un enchevêtrement important des écorces, ni la compression des microgels à l'interface. L'ajout de microgels dans la phase continue permet l'obtention d'un film plus dense, ce qui a pour effet de modifier le comportement macroscopique des émulsions. Nous avons alors mis en évidence un nouveau levier pour modifier la densité de surface des microgels et ainsi permettre à l'expérimentateur de contrôler dans un premier temps la taille des gouttes d'huile par le phénomène de coalescence limitée, puis dans un second temps, l'épaisseur du film qui détermine l'état de floculation de l'émulsion préparée.

Cette étude nous a également permis de mettre en avant la complexité et la flexibilité de ces systèmes : non seulement leurs paramètres structuraux ont une importance sur leurs propriétés

aux interfaces, mais également sur leur dynamique d'adsorption. De cette manière, il est possible de piéger les microgels dans une conformation donnée. Le procédé de fabrication a également un rôle très important, ce qui peut être à l'origine des différences et des contradictions rapportées dans la littérature.

Références :

- (1) Ramsden, W. *Proceedings of the royal Society of London* **1903**, 156-164.
- (2) Pickering, S. U. *Journal of the Chemical Society, Transactions* **1907**, 91, 2001-2021.
- (3) Leal-Calderon, F.; Schmitt, V. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **2008**, 13, 217-227.
- (4) Schmitt, V.; Ravaine, V. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **2013**, 18, 532-541.
- (5) Li, Z.; Ngai, T. *Nanoscale* **2013**, 5, 1399-1410.
- (6) Bancroft, W. D. *The Journal of Physical Chemistry* **1913**, 17, 501-519.
- (7) Finkle, P.; Draper, H. D.; Hildebrand, J. H. *Journal of the American Chemical Society* **1923**, 45, 2780-2788.
- (8) Fordham, S. *Transactions of the Faraday Society* **1954**, 50, 593-598.
- (9) Ngai, T.; Behrens, S. H.; Auweter, H. *Chemical Communications* **2005**, 331-333.
- (10) Ngai, T.; Auweter, H.; Behrens, S. H. *Macromolecules* **2006**, 39, 8171-8177.
- (11) Fujii, S.; Read, E. S.; Binks, B. P.; Armes, S. P. *Advanced Materials* **2005**, 17, 1014-1018.
- (12) Fujii, S.; Armes, S. P.; Binks, B. P.; Murakami, R. *Langmuir* **2006**, 22, 6818-6825.
- (13) Brugger, B.; Richtering, W. *Langmuir* **2008**, 24, 7769-7777.
- (14) Tsuji, S.; Kawaguchi, H. *Langmuir* **2008**, 24, 3300-3305.
- (15) Zhang, J.; Pelton, R. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **1999**, 156, 111-122.
- (16) Zhang, J.; Pelton, R. *Langmuir* **1999**, 15, 8032-8036.
- (17) Vilgis, T. A.; Stapper, M. *Eur. Phys. J. B* **1998**, 2, 69-74.
- (18) Brugger, B.; Rosen, B. A.; Richtering, W. *Langmuir* **2008**, 24, 12202-12208.
- (19) Brugger, B.; Rütten, S.; Phan, K.-H.; Möller, M.; Richtering, W. *Angewandte Chemie International Edition* **2009**, 48, 3978-3981.
- (20) Monteux, C. c.; Marlière, C.; Paris, P.; Pantoustier, N. g.; Sanson, N.; Perrin, P. *Langmuir* **2010**, 26, 13839-13846.
- (21) Brugger, B.; Vermant, J.; Richtering, W. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2010**, 12, 14573-14578.
- (22) Destribats, M.; Lapeyre, V.; Wolfs, M.; Sellier, E.; Leal-Calderon, F.; Ravaine, V.; Schmitt, V. *Soft Matter* **2011**, 7, 7689-7698.
- (23) Wu, X.; Pelton, R. H.; Hamielec, A. E.; Woods, D. R.; McPhee, W. *Colloid Polym Sci* **1994**, 272, 467-477.
- (24) Destribats, M.; Lapeyre, V.; Sellier, E.; Leal-Calderon, F.; Ravaine, V.; Schmitt, V. *Langmuir* **2012**, 28, 3744-3755.
- (25) Destribats, M.; Wolfs, M.; Pinaud, F.; Lapeyre, V.; Sellier, E.; Schmitt, V.; Ravaine, V. *Langmuir* **2013**, 29, 12367-12374.
- (26) Lele, A. K.; Hirve, M. M.; Badiger, M. V.; Mashelkar, R. A. *Macromolecules* **1997**, 30, 157-159.
- (27) Isa, L.; Lucas, F.; Wepf, R.; Reimhult, E. *Nature communications* **2011**, 2, 438.
- (28) Destribats, M.; Eyharts, M.; Lapeyre, V.; Sellier, E.; Varga, I.; Ravaine, V.; Schmitt, V. *Langmuir* **2014**, 30, 1768-1777.
- (29) Reculosa, S.; Perrier-Cornet, R.; Agricole, B.; Heroguez, V.; Buffeteau, T.; Ravaine, S. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2007**, 9, 6385-6390.
- (30) Hunter, T. N.; Jameson, G. J.; Wanless, E. J.; Dupin, D.; Armes, S. P. *Langmuir* **2009**, 25, 3440-3449.

- (31) Mucic, N.; Kovalchuk, N. M.; Aksenenko, E. V.; Fainerman, V. B.; Miller, R. *Journal of colloid and interface science* **2013**, *410*, 181-187.
- (32) Stocco, A.; Drenckhan, W.; Rio, E.; Langevin, D.; Binks, B. P. *Soft Matter* **2009**, *5*, 2215-2222.
- (33) Atta, A. M. *Polymer International* **2014**, *63*, 607-615.
- (34) Dyab, A. K. F.; Atta, A. M. *RSC Advances* **2013**, *3*, 25662-25665.
- (35) Lee, L. T.; Jean, B.; Menelle, A. *Langmuir* **1999**, *15*, 3267-3272.
- (36) Mitsche, M. A.; Wang, L.; Jiang, Z. G.; McKnight, C. J.; Small, D. M. *Langmuir* **2009**, *25*, 2322-2330.
- (37) Li, Z.; Geisel, K.; Richtering, W.; Ngai, T. *Soft Matter* **2013**, *9*, 9939-9946.
- (38) Zell, Z. A.; Isa, L.; Ilg, P.; Leal, L. G.; Squires, T. M. *Langmuir* **2013**, *30*, 110-119.
- (39) Destribats, M.; Lapeyre, V.; Sellier, E.; Leal-Calderon, F.; Schmitt, V.; Ravaine, V. *Langmuir* **2011**, *27*, 14096-14107.
- (40) Safouane, M.; Langevin, D.; Binks, B. P. *Langmuir* **2007**, *23*, 11546-11553.
- (41) Zang, D.; Langevin, D.; Binks, B.; Wei, B. *Physical Review E* **2010**, *81*, 011604.
- (42) Zhang, J.; Pelton, R. *Langmuir* **1996**, *12*, 2611-2612.
- (43) Kawaguchi, M.; Hirose, Y.-i.; Kato, T. *Langmuir* **1996**, *12*, 3523-3526.
- (44) Gilcreest, V. P.; Dawson, K. A.; Gorelov, A. V. *The Journal of Physical Chemistry B* **2006**, *110*, 21903-21910.
- (45) Richardson, R. M.; Pelton, R.; Cosgrove, T.; Zhang, J. *Macromolecules* **2000**, *33*, 6269-6274.
- (46) Monteux, C.; Mangeret, R.; Laibe, G.; Freyssingeas, E.; Bergeron, V.; Fuller, G. *Macromolecules* **2006**, *39*, 3408-3414.
- (47) Noskov, B. A.; Akentiev, A. V.; Bilibin, A. Y.; Grigoriev, D. O.; Loglio, G.; Zorin, I. M.; Miller, R. *Langmuir* **2004**, *20*, 9669-9676.
- (48) Noskov, B. A.; Akentiev, A. V.; Miller, R. *Journal of colloid and interface science* **2002**, *255*, 417-424.
- (49) Freer, E. M.; Yim, K. S.; Fuller, G. G.; Radke, C. J. *The Journal of Physical Chemistry B* **2004**, *108*, 3835-3844.
- (50) Freer, E. M.; Yim, K. S.; Fuller, G. G.; Radke, C. J. *Langmuir* **2004**, *20*, 10159-10167.
- (51) Noskov, B. A.; Latnikova, A. V.; Lin, S. Y.; Loglio, G.; Miller, R. *The Journal of Physical Chemistry C* **2007**, *111*, 16895-16901.
- (52) Tadjou, O.; Cassagnau, P.; Chapel, J. P. *Langmuir* **2009**, *25*, 11205-11209.
- (53) Brooks, C. F.; Thiele, J.; Frank, C. W.; O'Brien, D. F.; Knoll, W.; Fuller, G. G.; Robertson, C. R. *Langmuir* **2002**, *18*, 2166-2173.

## **Chapitre IV :**

# **Fonctionnalisation des microgels aux interfaces : vers des microgels Janus**

---



## Introduction au chapitre

Les particules Janus sont des particules dissymétriques nommées ainsi en référence au Dieu de la mythologie romaine, généralement représenté avec une tête possédant deux visages. Plus précisément, le terme désigne des objets de dimensions micrométriques ou nanométriques, possédant deux extrémités aux propriétés différentes. Dans le cas de particules sphériques, ce sont les hémisphères qui sont différenciés. La préparation de ce type de matériaux a déjà fait l'objet de nombreux travaux, notamment sur des particules solides et sphériques.<sup>1</sup> Une technique pour la dissymétrisation d'objet conducteur ou semi-conducteur à grande échelle, par électrochimie bipolaire, a notamment été développée dans notre laboratoire.<sup>2,3</sup> L'intérêt de la communauté scientifique, mais également du monde industriel, pour les particules Janus est en pleine croissance. Elles offrent des perspectives intéressantes pour de nombreux secteurs d'application comme la catalyse, les traitements thérapeutiques, l'agro-alimentaire, la détection ou l'imagerie. Pourtant, très peu de travaux ont été consacrés à la préparation de particules Janus à base de microgels. La porosité de ces matériaux et leur déformabilité offrent l'opportunité de dissymétriser par fonctionnalisation le volume de la particule et non uniquement la surface. De plus, en fonction du type de polymères utilisés, les matériaux finaux peuvent être Janus et stimulables.

L'objectif de ce chapitre est de préparer des microgels Janus stimulables dont les taux de gonflement sont différenciés, et d'en explorer les possibilités d'auto-assemblage (cf Figure IV. 1). Pour obtenir cette différence de taux de gonflement, des microgels de poly(NIPAM) seront dissymétrisés avec une espèce chimique hydrophobe.

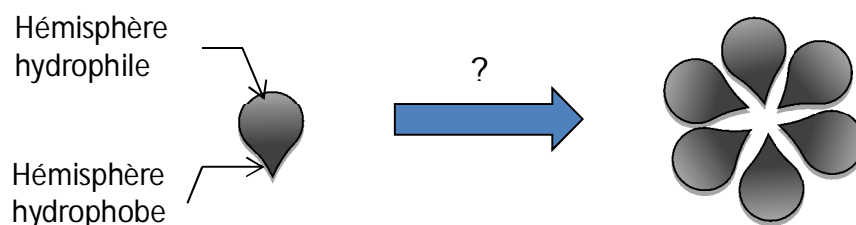


Figure IV. 1 : Schéma d'un microgel Janus ayant une forme asymétrique et type d'auto-assemblage susceptible de se former

Pour ce faire nous allons profiter de la bonne connaissance de notre équipe sur l'organisation des microgels à l'interface eau-huile et du contrôle de cette organisation par des leviers physico-chimiques (structure des microgels, paramètres de procédés) pour fonctionnaliser les microgels une fois adsorbés à l'interface eau-huile. Dans un premier temps, les microgels seront fonctionnalisés avec une molécule fluorescente afin d'obtenir une preuve visuelle de la dissymétrisation des microgels. Ensuite, ils seront fonctionnalisés avec une molécule qui est hydrophobe, dont l'hydrophobie change en fonction du pH. L'acide phénylboronique, déjà bien connu au laboratoire, sera choisi pour ces propriétés. La préparation de microgels Janus dont un hémisphère est sensible au glucose présente également un intérêt applicatif. Leur comportement en fonction des conditions environnementales sera étudié. Nous concluons ce chapitre avec l'étude du comportement de microgels polyampholytes qui possèdent une zone globalement chargée négativement et une seconde zone chargée globalement positivement.

## I. Contexte de l'étude : étude bibliographique sur la synthèse de particules Janus

Dans cette partie, nous allons présenter les principales techniques utilisées pour la préparation de particules Janus. Nous nous focaliserons essentiellement sur les particules sphériques constituées de polymères. Dans un premier temps nous présenterons une technique qui consiste à fonctionnaliser régiosélectivement des particules de structure initiale homogène. Nous présenterons ensuite plusieurs techniques qui permettent la préparation de particules *in situ* dissymétriques.

### I.1. Dissymétrisation par fonctionnalisation d'objets adsorbés à une interface

Cette méthode de préparation de particules Janus se décline en deux étapes. La première consiste en la préparation des particules, ce qui permet de fixer certains paramètres comme la taille et la polydispersité des matériaux. Lors de la deuxième étape, les particules sont adsorbées sur la surface d'un solide, ou à l'interface de deux fluides, afin de protéger un hémisphère de la particule pendant la fonctionnalisation du second.<sup>4</sup> Les travaux de l'équipe de Kawaguchi illustrent bien ce concept, car ils décrivent la dissymétrisation de microsphères polymériques adsorbées sur une coupelle de polystyrène (PS) ou à l'interface plane eau-air. Gangwal *et al.* rapportent la dissymétrisation de particules de polystyrène organisées en monocouche à la surface d'un substrat en verre.<sup>5</sup> De l'or est ensuite vaporisé et se dépose sur la partie non protégée des particules. La technique d'immobilisation sur une surface en verre est également utilisée pour déposer des nanoparticules de PS sur des particules polymériques,<sup>6</sup> et permet également leur modification de surface par un plasma.<sup>7</sup>

Dans le but d'augmenter la quantité d'interface, et donc la quantité de matériaux fonctionnalisés, les particules sont adsorbées à la surface de particules en suspension,<sup>8</sup> ou à la surface de gouttes dans des émulsions de Pickering.<sup>9</sup> Ces premiers travaux décrivent la dissymétrisation de la surface de particules solides. En 2009, l'équipe de S. Ravaine montre l'intérêt d'utiliser les interfaces liquides des émulsions, car l'ajout de tensioactif dans la phase continue permet de moduler l'ancrage des particules et donc la quantité de surface protégée par la phase dispersée, ce qui n'est pas possible à une interface solide.<sup>10</sup>

Ces deux approches ont également été utilisées pour la préparation de microgels Janus stimulables. Avec ce type de matériaux poreux, la fonctionnalisation ne se limite plus à la surface, car le volume de la particule est également en contact avec la phase dispersée et est accessible par les réactifs. Les travaux de l'équipe de Kawaguchi rapportent la dissymétrisation de microgels de poly(NIPAM-co-MMA) à l'interface eau-huile.<sup>11</sup> Les microgels sont préparés selon la méthode de polymérisation par précipitation entre le NIPAM, le BIS, et l'acide méthacrylique. Ce dernier est incorporé dans la matrice afin d'introduire des fonctions acides carboxyliques qui pourront réagir avec des amines par couplage peptidique. Dans ces travaux les microgels sont adsorbés à la surface d'une émulsion d'hexadécane dans l'eau, puis fonctionnalisés par l'éthylène diamine (ED) en présence d'un agent de couplage hydrosoluble, le 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide (cf Figure IV. 2). Une fois la fonctionnalisation terminée, l'émulsion est détruite en provoquant la cristallisation de l'hexadécane (émulsion stockée à 4 °C), puis en le laissant fondre à température ambiante. Les microgels récupérés ont alors deux hémisphères chimiquement différents, dont l'un est composé d'acide carboxylique et le second d'amine. Lorsque le pH est compris entre 4,25 et 9, qui sont respectivement les pKa du MAA et de l'ED,<sup>11</sup> la charge de chaque hémisphère est différente ce qui est à l'origine d'interactions interparticulaires provoquant l'apparition d'un auto-assemblage des microgels sous forme de lignes. La dissymétrie a également pu être visualisée par microscopie électronique après croissance *in situ* de nanoparticules d'or sur les fonctions amines (cf Figure IV. 2. d). Cependant il est à noter que ces travaux présentent un nombre très limité d'objets.

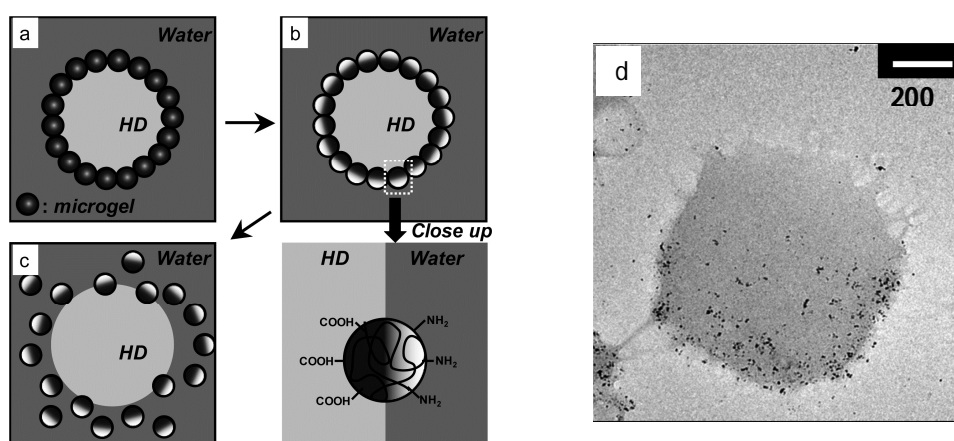


Figure IV. 2 : Schéma illustrant (a) la préparation des émulsions de Pickering, (b) la modification chimique des microgels et (c) la récupération des microgels par désstabilisation des émulsions. (d) Cliché TEM des microgels après la synthèse *in situ* des nanoparticules d'or. Adapté de <sup>11</sup>.

Le même type d'étude est également réalisé par Umeda *et al.* où la phase huile est solidifiée dans le but de s'affranchir d'une éventuelle rotation des microgels une fois adsorbés à l'interface, comme c'est le cas avec les particules non déformables.<sup>12</sup> L'amélioration du protocole n'a toutefois pas été démontrée.

Bradley *et al.* rapportent la préparation de particules cationiques de poly(2-vinylpyridine) sur lesquelles sont greffées de manière régiosélective des chaînes de polymères stimulables.<sup>13</sup> Pour cela une hétéroagrégation est formée entre les microgels cationiques et des latex plus gros, anioniques, composés de poly(2-vinylpyridine-co-styrène). La présence d'atomes de chlore à la surface des petits microgels permet de faire croître des chaînes de poly(NIPAM) par polymérisation radicalaire par transfert d'atomes sur la surface non protégée par le latex (cf Figure IV. 3).

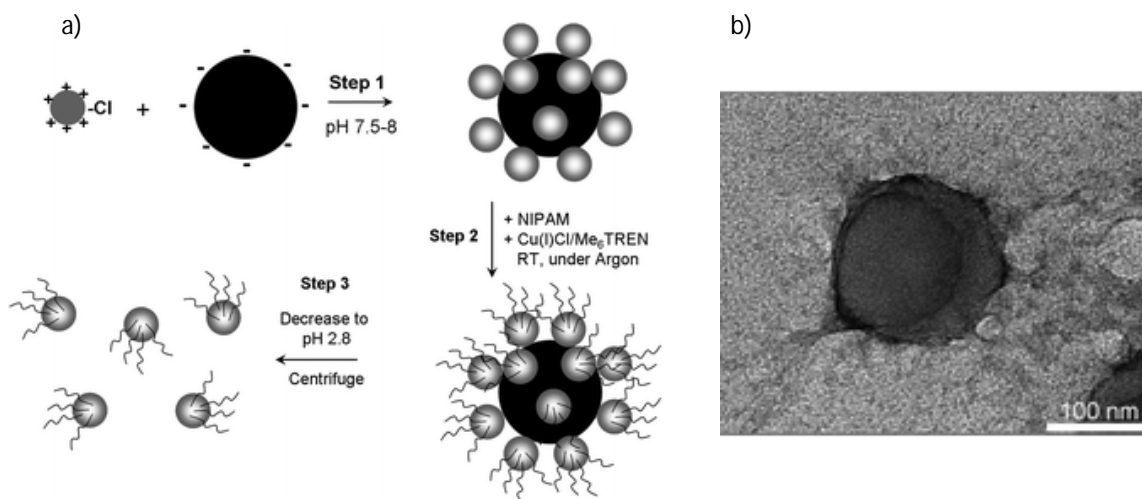


Figure IV. 3 : a) Schéma illustrant la préparation de microgels Janus par la technique d'hétéroagrégation. b) Image TEM d'un microgel Janus. Extrait de <sup>13</sup>.

## I.2. Obtention de particules Janus par séparation de phase

Cette technique de préparation de particules Janus repose sur la séparation de phase d'au moins deux composés incompatibles en milieu confiné ou en solution. Ce phénomène peut être provoqué par un changement d'affinité polymère-solvant ou par la présence d'interactions attractives entre des copolymères en solution. Bien que l'aspect stimuable de certains polymères

soit un atout pour utiliser cette technique, peu de travaux rapportent la préparation de particules Janus stimulables par cette technique.

### *Séparation de phase dans une émulsion*

Les premiers travaux, qui rapportent la préparation de particules Janus en utilisant cette technique, ont été réalisés par l'équipe d'Okubo lors de l'étude de la séparation de phase d'un mélange de deux homopolymères, le polystyrène (PS) et le polyméthacrylate de méthyle (PMMA), au sein d'une goutte d'émulsion.<sup>14-17</sup> La phase dispersée de cette émulsion est constituée d'une solution de toluène dans laquelle sont dissouts les deux polymères. L'évaporation du toluène provoque la précipitation des polymères et permet l'obtention de nanoparticules d'environ 7  $\mu\text{m}$  de diamètre, ayant deux phases distinctes (cf Figure IV. 4. a). Ce phénomène est le résultat d'interactions complexes entre les polymères et la phase aqueuse, comme par exemple la tension de surface polymère/polymère et les tensions de surface polymère/eau. En effet, la modification de ces dernières par l'ajout de tensioactif, permet de modifier la structure interne des particules formées. En présence d'une faible quantité de SDS, la structure des particules est du type cœur-écorce et évolue vers une structure Janus lorsque la concentration augmente.<sup>14,17</sup> L'ajout de tensioactif diminue l'écart entre les tensions de surface PS/eau et PMMA/eau, ce qui limite la formation d'une écorce en faveur de la formation de deux hémisphères de nature chimique différente. Les auteurs ont également démontré qu'il est possible de modifier la géométrie des particules en diminuant les tensions de surface polymères/eau et en augmentant la tension de surface polymère/polymère (augmentation de la longueur des chaînes).<sup>15,16</sup> L'avantage de cette technique est la possibilité de modifier la structure interne et la forme des particules en modifiant simplement les tensions de surface entre les différentes phases. Quelques années plus tard, le même groupe développe des particules Janus, dont l'un des hémisphères est modifié chimiquement.<sup>18,19</sup> Les homopolymères de PS sont remplacés par des polymères de PS porteurs d'un groupement capable d'initier une polymérisation radicalaire par transfert d'atome. De cette manière, des particules Janus avec des morphologies et des propriétés originales peuvent être préparées (cf Figure IV. 4).

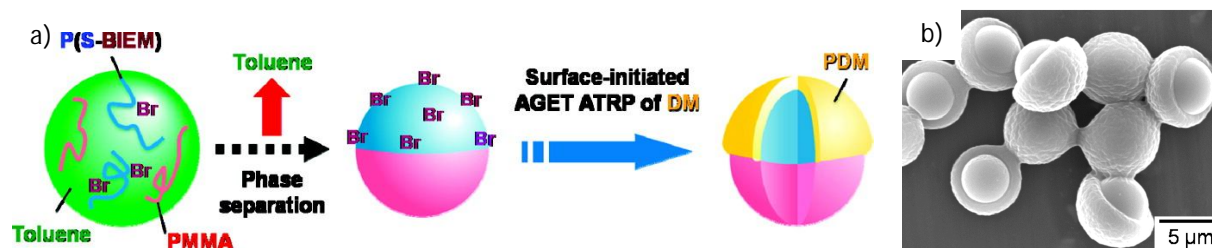


Figure IV. 4 : a) Représentation schématique de la préparation des particules Janus par séparation de phase. b) cliché TEM des particules après polymérisation. Adapté de <sup>19</sup>.

Cette technique est également utilisée par le groupe de Landfester, en dissolvant du PS et du polycarbonate de propylène (PPC) dans du chloroforme.<sup>20</sup> L'évaporation du solvant, dispersé dans une phase aqueuse, engendre la formation de particules dont la composition varie en fonction des quantités de polymère dissout initialement. Ce concept est également utilisé pour préparer des particules Janus hybrides dont l'une des phases est composée de nanoparticules magnétiques.<sup>21-23</sup>

La séparation de phase peut également être provoquée par le changement des propriétés physiques de polymères stimulables.<sup>24</sup> En effet, l'équipe de Weitz utilise la sensibilité à la température de microgels cationiques de poly(NIPAM-co-Allylamine) pour former une particule dissymétrique. Une émulsion inverse obtenue par voie microfluidique est formée où les gouttes d'eau contiennent : les microgels dont le diamètre est de 500 nm, des polymères d'acide polyacrylique, de l'acrylamide, du BIS et un photo-amorceur. Lorsque l'émulsion est chauffée à 65 °C, les microgels se contractent et s'agrègent car la force d'attraction de Van der Waals devient plus importante que les forces de répulsions électrostatiques. Les polymères de PAA (chargés négativement) ont pour rôle d'assurer une cohésion entre les microgels une fois qu'ils sont agrégés. Ensuite, l'émulsion est exposée aux rayonnements UV dans le but de déclencher la polymérisation de l'acrylamide et du BIS afin de figer la structure. Le volume de chaque phase peut être modulé en modifiant la concentration des espèces en solution. Les matériaux obtenus par cette technique ont un diamètre très élevé puisqu'il est d'environ 100 µm.

La séparation de phase de copolymères photosensibles à base de poly(NIPAM) peut également être provoquée par exposition aux rayonnements UV (cf Figure IV. 5).<sup>25</sup> Une fois que la

séparation de phase est provoquée, la structure est également figée par polymérisation dans la goutte d'eau en présence de réticulant. La particule Janus obtenue est composée d'une phase de copolymères réticulés et d'une seconde phase uniquement composée de réticulant.<sup>26</sup>

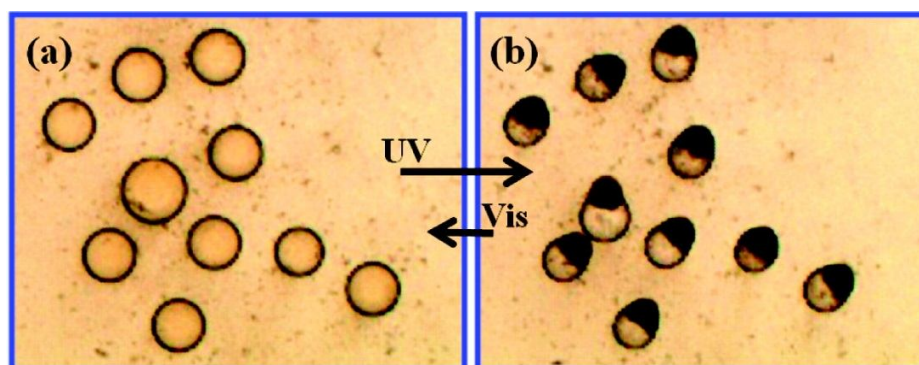


Figure IV. 5 : Image de microscopie optique de gouttes d'eau contenant les copolymères de poly(NIPAM) photosensibles a) exposées à la lumière visible et b) 3 s après exposition aux UV. Extrait de <sup>25</sup>.

### *Séparation de phase en solution*

Le phénomène de séparation de phase résultant de l'évaporation de solvant est également employé en solution sans la présence d'émulsion, pour jouer le rôle de gabarit. Higuchi *et al*, décrivent la préparation de particules à partir d'un mélange de deux homopolymères : le PS et le polyisoprène (PI).<sup>27</sup> Ces deux polymères sont dissouts dans le THF, puis de l'eau est ajoutée à la solution. Le passage en mauvais solvant par évaporation du THF va provoquer la précipitation des polymères qui sont incompatibles. De cette manière, les nanoparticules obtenues sont sphériques et composées de deux hémisphères de composition différente. La composition du mélange initial fixe la taille de chaque hémisphère des particules.

### **I.3. Obtention de particules Janus par confinement de fluides**

Les propriétés d'écoulement de fluides dans des canaux micrométriques peuvent être mises à profit pour la préparation de particules Janus originales. Ces deux techniques offrent l'opportunité de préparer des particules Janus qui possèdent des formes et des compositions chimiques très variées.



### *Technique de co-jetting électrodynamique*

Des travaux pionniers réalisés par Roh *et al* décrivent la synthèse de particules Janus par co-jetting électrodynamique de deux solutions de polymères non miscibles.<sup>28</sup> Cette technique consiste à injecter les solutions de polymères dans deux capillaires parallèles, qui débouchent tous deux dans une aiguille. L'application d'un champ électrique élevé, entre l'aiguille et un substrat sur lequel sont récupérées les particules, permet l'expulsion des deux fluides sous la forme de particules Janus micrométriques. Lors de l'expulsion de la solution, le solvant s'évapore provoquant ainsi la précipitation des polymères. La forme des particules ainsi obtenues peut être sphérique ou cylindrique en fonction du champ appliqué, du débit d'injection des solutions de polymères, ainsi que de leur viscosité et de leur conductivité. De nombreuses combinaisons de polymères non miscibles sont possibles. Les auteurs ont également incorporé des fluorophores et des nanocristaux d'or ou d'oxydes métalliques.<sup>29-31</sup> Ainsi le caractère Janus des particules est observable par les différentes techniques de microscopie.

### *Synthèse par voie microfluidique*

La microfluidique est un très bon outil, qui offre la possibilité de synthétiser des particules Janus monodisperses, dont la taille est comprise entre 5 et 100  $\mu\text{m}$  avec un bon contrôle de la morphologie et de la composition chimique de chaque hémisphère.<sup>32-34</sup> L'équipe de Higuchi est la première à rapporter la préparation de particules Janus par voie microfluidique. Ces particules sont bicolores : l'un des hémisphères est noir et l'autre transparent.<sup>35</sup>

Par la suite l'équipe de Kumacheva rapporte également la synthèse de particules Janus par photopolymérisation de gouttes formées par émulsification de solutions de monomères.<sup>36</sup> Ces travaux mettent en évidence que le débit des solutions de monomère permet de contrôler la taille de chaque hémisphère qui compose la particule Janus. De plus, la modification de la puce microfluidique (ajout d'un canal arrivant à la jonction), permet d'ajouter une phase supplémentaire pour former des particules composées de trois phases appelées particules ternaires (cf Figure IV. 6).

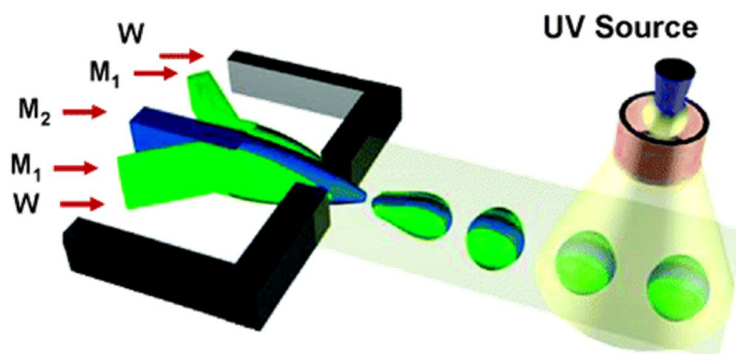


Figure IV. 6 : Schéma du dispositif microfluidique utilisé pour la synthèse de particules ternaires. M1 et M2 sont les solutions de monomère dispersé dans de l'eau W. Extrait de <sup>36</sup>.

Cette technique est également utilisée pour la préparation de particules Janus stimulables. Ces travaux sont menés par l'équipe de Weitz qui tire également profit des jonctions de microcanaux pour former des gouttes biphasiques, de monomères<sup>37</sup> ou de polymères,<sup>38,39</sup> qui seront ensuite réticulées par exposition aux rayonnements UV. Par cette méthode, les auteurs ont réussi à préparer des microgels Janus de poly(NIPAM), dont chaque hémisphère possède des propriétés spectroscopiques différentes. Pour cela, ils utilisent des solutions de polymères linéaires qui sont fonctionnalisés avec différents fluorophores. Ces différentes études leur ont permis de mettre en évidence que le débit de chaque phase et la mouillabilité des microcanaux par les solutions injectées sont des paramètres qui influent sur la structure et la morphologie des particules.<sup>37-39</sup>

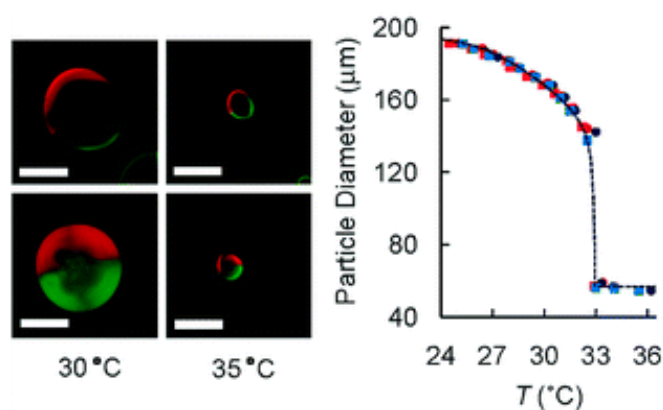


Figure IV. 7 : Caractérisation de microgels Janus thermosensibles de morphologies différentes. Les images des microgels observés avec un microscope confocal mettent en évidence la différence de morphologie lorsque les débits sont faibles (en haut) ou élevés (en bas) ainsi que la transition entre un état gonflé (à gauche) et un état contracté (à droite). Les barres d'échelle représentent 100 μm. Le graphique représente l'évolution du diamètre hydrodynamique en fonction de la température pour les deux morphologies. Adapté de <sup>38</sup>.

## **I.4. Obtention de particules Janus par auto-assemblage**

Les particules Janus polymériques peuvent également être obtenues par auto-assemblage de copolymères à blocs en solution. En règle générale, les copolymères triblocs de type A-B-C sont les plus utilisés pour la fabrication de particules Janus. Après assemblage sous forme de micelles, la phase centrale constituée de blocs B, peut être figée par réticulation, alors que les blocs A et C pointent dans des directions opposées. Les premiers travaux rapportant la préparation de micelles Janus sont ceux de l'équipe de Müller.<sup>40</sup> Le bloc central de micelles formées par des copolymères de PS-polybutadiène(PB)-PMMA est réticulé afin de maintenir la structure. En fonction de la longueur de chaque bloc, différentes morphologies de particules Janus peuvent être préparées, comme par exemple des sphères, des cylindres ou encore des disques.<sup>41-43</sup> Par la suite, l'auto-assemblage de polymères diblocs ou triblocs est également utilisé par de nombreuses autres équipes.<sup>44-53</sup> Les micelles Janus qui en découlent, conservent leur structure grâce à la présence d'interactions électrostatiques,<sup>46-49</sup> ou de liaisons covalentes entre les polymères.<sup>50-53</sup> L'avantage de cette technique est qu'elle permet de produire des particules de morphologie différente avec une très faible distribution en taille et dont le diamètre est de quelques centaines de nanomètres. Cependant, la production en grande quantité est difficile, car l'auto-organisation de copolymères à blocs nécessite souvent de travailler dans des conditions de concentrations très faibles.<sup>54</sup>

Parmi ces travaux, une seule équipe rapporte la préparation de micelles stimulables. Ces dernières sont réticulées physiquement par le biais d'interactions électrostatiques.<sup>48</sup> Elles sont obtenues par auto-assemblage de deux types de copolymères, l'un composé de polyéthylène glycol et de poly(4-vinylpyridine) et le second de poly(NIPAM) et de poly(4-vinylpyridine). Les blocs constitués de vinylpyridine forment un cœur réticulé par des ions sulfates divalents alors que les blocs de PEG et de poly(NIPAM) pointent vers l'extérieur. Les auteurs ont réussi à mettre en évidence que dans certaines conditions, il est possible d'obtenir des micelles Janus dont le diamètre est inférieur à 100 nm, car une séparation de phase a lieu entre le PEG et le poly(NIPAM) (cf Figure IV. 8). L'augmentation de la température provoque la précipitation du poly(NIPAM), la particule est alors composée d'une zone hydrophile (PEG) et d'une zone hydrophobe (poly(NIPAM)), ce qui est à l'origine d'une auto-organisation (cf Figure IV. 8).

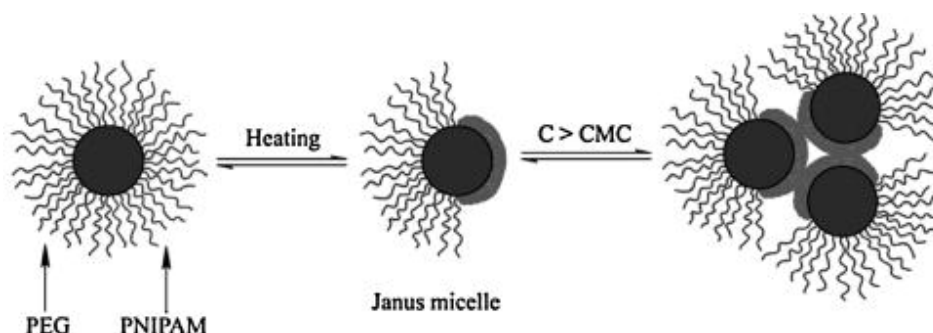


Figure IV. 8 : Schéma illustrant la formation de particules Janus et leur auto-organisation. Adapté de <sup>48</sup>.

## I.5. Conclusion de l'étude bibliographique

A l'heure actuelle, peu de travaux rapportent la synthèse et la caractérisation de microgels Janus stimulables. Depuis les travaux de Kawaguchi en 2007 qui ne présentent que peu de microgels Janus et dont la caractérisation est peu poussée,<sup>11</sup> très peu d'études ont été menées sur ce sujet en dehors de la voie microfluidique. Cette dernière, ne permet ni la synthèse de matériaux de taille inférieure à une centaine de microns, ni la production de particules en grandes quantités. Dans notre technique, nous allons nous servir de la grande quantité d'interface disponible dans les émulsions pour dissymétriser un grand nombre de microgels. Grâce à l'expertise du groupe sur la stabilisation d'émulsions par des microgels et les travaux effectués dans le chapitre précédent, nous connaissons plusieurs facteurs qui permettent d'organiser les microgels à l'interface sous forme comprimée ou étendue. Nous souhaitons utiliser ces connaissances pour maîtriser la fonctionnalisation des microgels à l'interface.

## II. Stratégie de synthèse de microgels Janus et protocole expérimental

### II.1. Stratégie de synthèse

L'objectif de ces travaux est de préparer des microgels Janus, dont chaque hémisphère présente un état de gonflement différent et est capable de répondre à un stimulus différent. Nous souhaitons en particulier développer des microgels dont uniquement l'un des hémisphères est sensible au glucose. Cette sensibilité sera donnée par l'acide phénylboronique, qui apporte également un caractère hydrophobe.

Le principe de la méthode est le suivant : des microgels fonctionnalisables sont adsorbés à la surface de gouttes d'huile. La modification chimique du microgel est obtenue par greffage d'un agent hydrosoluble dans la phase aqueuse par une des voies de couplage les plus utilisées dans l'eau est le couplage peptidique, entre une amine primaire et un acide carboxylique en présence d'un agent de couplage.

Dans le but de favoriser l'exposition des microgels avec la phase continue il est nécessaire de limiter le pontage des gouttes d'huile (émulsions floculées). Ainsi, nous choisissons de limiter le pontage en jouant sur la quantité de réticulant des microgels conformément à ce qui est décrit dans le chapitre III. Ainsi, les microgels faiblement réticulés dont la structure est composée d'acides carboxyliques, seront adsorbés à l'interface eau-huile, puis des dérivés porteurs d'une fonction amine seront introduits dans la phase aqueuse pour être greffés sur le microgel. Le schéma général est résumé sur la Figure IV. 9.

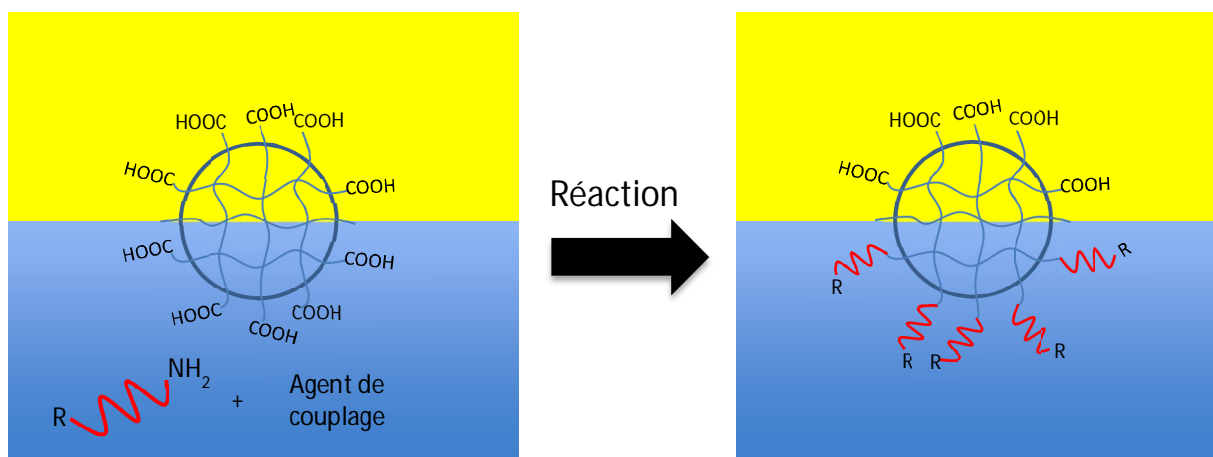


Figure IV. 9 : Schéma général de la fonctionnalisation des microgels à l'interface eau-huile.

Trois modèles de greffons seront introduits. Dans le premier cas, R sera un motif fluorescent, afin de visualiser la structure interne des microgels par imagerie de fluorescence. Dans le second cas, il s'agira d'un acide phénylboronique afin de générer la sensibilité au glucose. A noter que l'introduction d'acide phénylboronique permet également d'apporter une contribution hydrophobe, ce qui permettra de différencier l'état de gonflement entre l'hémisphère porteur de groupements acides carboxyliques, plutôt hydrophiles, et l'hémisphère porteur de motifs acide

phénylboroniques, plutôt hydrophobe. Le troisième greffon permettra d'introduire des motifs amines, de manière analogue aux travaux réalisés par Kawaguchi,<sup>11</sup> dans l'optique de visualiser l'auto-assemblage des microgels induit par les interactions électrostatiques. Les structures chimiques des trois greffons sont présentées Figure IV. 10.

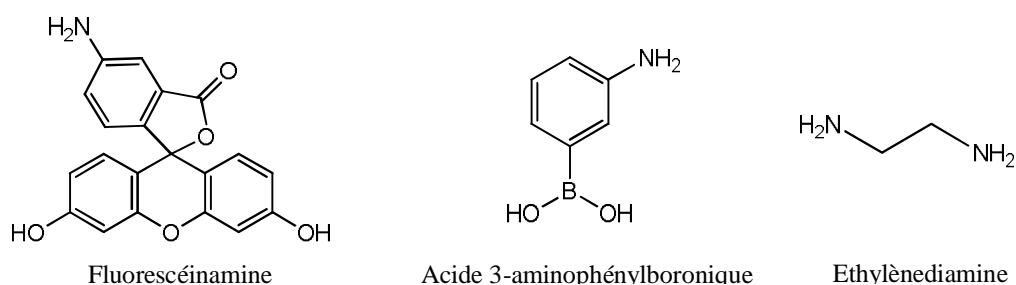


Figure IV. 10 : Structures chimiques des trois greffons utilisés pour les fonctionnalisations.

Afin de pouvoir caractériser les microgels par des techniques complémentaires, différentes morphologies de précurseurs seront utilisées. Les microgels obtenus par voie classique auront un diamètre en solution de l'ordre du micromètre. Du fait de leur petite taille et de leur faible contraste d'indice, ils sont souvent difficiles à caractériser. D'autres microgels plus gros seront également étudiés. La méthode de synthèse utilisée pour la préparation de microgels plus gros nous permet de faire facilement varier la structure interne des microgels. Nous avons donc choisi d'étudier en parallèle deux types de structures (microgels cœur-écorce et des capsules) qui sont représentées sur la Figure IV. 11.

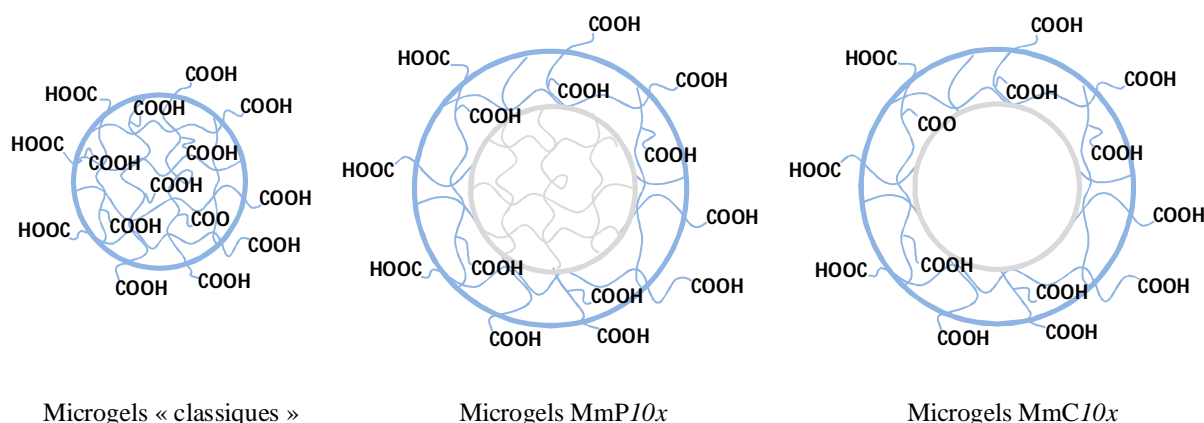


Figure IV. 11 : Schéma des différentes structures de microgels synthétisés.

## II.2. Protocole expérimental

### II.2.1. Synthèse des microgels

Comme pour les études précédentes, les microgels sont préparés par polymérisation radicalaire par précipitation d'une triade de monomères qui sont : le NIPAM, le BIS et l'acide acrylique (AAc). La structure chimique de la matrice polymère des microgels est présentée Figure IV. 12.

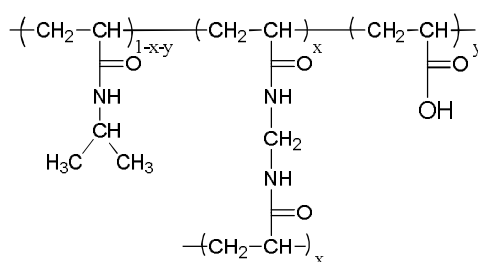


Figure IV. 12 : Structure chimique des microgels.

Lors de la synthèse la concentration totale en monomère est de 70 mM. Le pourcentage molaire x de réticulant BIS est gardé constant et égal à 0,5 % mol. On introduit un pourcentage molaire y de AAc qui est égal à 10 % mol. La réaction est amorcée par décomposition thermique du persulfate de potassium (1,5 mM) noté KPS, qui produit des radicaux chargés négativement. Ceux-ci sont choisis pour leur charge qui est de même signe que les ions carboxylates que l'on souhaite introduire par copolymérisation. L'ensemble des monomères est alors dissout dans l'eau désionisée. Après filtration, la solution est chauffée et dégazée pendant 1 h avant amorçage. La polymérisation se poursuit sous agitation et bullage d'azote pendant au moins 6 h. Afin d'éliminer les résidus de synthèse, comme les polymères linéaires hydrosolubles, les microgels sont purifiés par centrifugation. La solution de synthèse est récupérée puis centrifugée à 14 000 tr/min pendant 30 minutes à 25 °C. Après la centrifugation les microgels forment un culot au fond du tube et les polymères linéaires restent en solution dans le surnageant qui est retiré pour être remplacé par de l'eau désionisée. Les microgels sont alors redispersés dans l'eau à l'aide d'un vortex. Ce cycle de centrifugation redispersion est répété 4 fois. Ces microgels seront qualifiés de « classiques » dans la suite du manuscrit.

La synthèse de microgels, dont le diamètre est de plusieurs  $\mu\text{m}$ , est réalisée suivant le protocole de l'équipe de Ngai.<sup>55</sup> Les particules sont préparées par polymérisation radicalaire où la température n'est pas constante, mais augmente progressivement au cours de la synthèse. Le monomère de NIPAM (0,6 g) est dissout dans 50 mL d'eau désionisée, en présence ou non de BIS. Pour obtenir des microgels cœur-écorce nous avons ajouté au NIPAM 0,008 g de BIS alors que pour obtenir des microgels « creux » la synthèse ne contient pas de BIS. Dans les deux cas, la solution de monomères est préchauffée à 40 °C pendant le dégazage par bullage d'azote de 1h. Ensuite, l'amorceur est également dissout dans l'eau pure et dégazé pendant 10 min avant d'être ajouté à la solution de monomères pour démarrer la polymérisation. A cet instant, la température est programmée pour augmenter de 5 °C toutes les 15 min de 40 °C à 60 °C. Un volume de 10 mL d'une solution contenant 0,6 g de NIPAM, le BIS et 0,08 g d'AAC est ajouté dans le réacteur à la fin de la rampe en température, à un débit de 0,2 mL par minute avec un pousse seringue. Le pourcentage molaire dans l'écorce y d'AAC est fixé à 15 %mol alors que le pourcentage x de BIS varie en fonction des échantillons préparés. Une fois l'ajout terminé, on laisse la polymérisation se poursuivre pendant 1 h à 60 °C. Après refroidissement du mélange réactionnel, les microgels sont purifiés par centrifugation à 8 000 tr/min pendant 30 min à 25 °C. 4 cycles de centrifugation-redispersion sont effectués. Les microgels issus de cette synthèse sont notés en fonction de leur morphologie et de leur teneur en BIS. Les microgels cœur-écorce sont identifiés de la manière suivante : MmP10x pour microgels micrométriques pleins (MmP) suivi de la teneur en BIS multipliée par 10. Les microgels creux sont quant à eux notés : MmC10x pour microgels micrométrique creux (MmC) suivi de la teneur en BIS multipliée par 10.

## II.2.2. Caractérisation des microgels

### Diffusion dynamique de la lumière (DLS)

Les diamètres et les PDI des microgels sont déterminés à l'aide d'un Zetasizer Nano S-90 (Malvern Instruments) doté d'un laser HeNe et d'un système de détection à  $\theta = 90^\circ$ . Les mesures sont réalisées à la température souhaitée sur des solutions de microgels diluées (de 0,01 g/L à 0,05 g/L de polymères). Les données sont traitées par le logiciel fourni avec l'appareil. Les microgels micrométriques ne peuvent pas être caractérisés par DLS car leur diamètre est trop important pour cette technique.



### **Zetamétrie**

La présence de charges à la surface de particules colloïdales dispersées en milieu polaire est à l'origine de la formation d'une double couche électrique. Cette dernière est constituée de la couche de Stern (contre-ions adsorbés à la surface de l'objet) et d'un cortège diffus d'ions attirés par la charge de surface. Lorsque la particule est en mouvement, elle entraîne une couche adjacente de liquide dont la limite extérieure est appelée plan de glissement. Dans le cas d'une particule solide, les charges sont situées uniquement à la surface de l'objet. Ainsi le potentiel zêta, noté  $\zeta$ , rend compte de l'état de charge de la double couche électrique comprise entre la surface de la particule et le plan de glissement. En ce qui concerne les microgels, ou autres colloïdes poreux, les charges sont présentes non seulement à la surface mais également dans le volume des particules. Un flux d'ion peut ainsi circuler dans le colloïde lorsque un champ électrique est appliqué (flux électroosmotique). Ohshima a développé un modèle mathématique qui permet d'obtenir, à partir de la mesure de la mobilité électrophorétique en fonction de la force ionique du milieu, des informations sur la répartition des charges dans les particules ainsi que sur la perméabilité des gels.<sup>56</sup>

Dans notre étude un champ électrique est appliqué à la cellule contenant l'échantillon pour mettre les microgels chargés en mouvement. La vitesse de déplacement des particules est mesurée par effet Doppler. Les fluctuations d'intensité lumineuse sont analysées par le logiciel de l'appareil pour en extraire les données caractéristiques. Dans ce manuscrit, les mobilités électrophorétiques des microgels seront présentées. Les mesures sont réalisées à 25 °C sur Zetasizer Nano ZS équipé d'un laser HeNe et d'un système de détection à  $\Theta = 173^\circ$ , sur des échantillons de microgels dilués (de 0,01 g/L à 0,05 g/L de polymères) avec un tampon phosphate 4 mM à différents pH.

### **Microscopie optique**

Les clichés de microscopie optique ont été obtenus sur un microscope Zeiss Axiovert X1000 équipé d'une caméra Axio Vision. Les échantillons de microgels sont déposés sur une lame et recouverts d'une lamelle dans le but de les observer avec un objectif x100 à immersion. Par cette technique nous pouvons estimer le diamètre des microgels micrométriques, visualiser la dissymétrie par fluorescence pour tous les échantillons, et observer la forme ainsi que

l'assemblage des microgels fonctionnalisés. Le diamètre des microgels micrométriques est une moyenne de 100 valeurs mesurées à partir des clichés enregistrés.

### **Microscopie électronique à transmission (TEM)**

Le TEM permet d'observer les microgels dans leur état sec, par détection des électrons du faisceau primaire qui passent à travers l'échantillon. La structure des microgels est visualisée sur un microscope FEI Tecnai 12 biotwin (120 kV). Pour ce faire, 20  $\mu$ l de suspension de microgels est déposée sur une grille de cuivre recouverte d'un film de carbone (maillage : 200 Mesh). Le dépôt est ensuite absorbé par dessous avec du papier filtre. L'observation des microgels nécessite l'ajout d'un agent de contraste électronique pour marquer les particules. L'acétate d'uranyle acidifié à 0,5% est utilisé, par dépôt de 10  $\mu$ l sur la grille qui est ensuite également adsorbé par dessous.

## **II.2.3. Etude du comportement à l'interface eau-huile**

### **Fabrication des émulsions**

Les émulsions sont fabriquées avec le même Ultra-Turrax présenté dans le chapitre III partie II.1.2 mais selon le protocole suivant : 8 mL d'une solution aqueuse de microgels contenant 0,07 % massique est placée dans un vial en verre. Cette concentration est choisie, car elle permet d'adsorber le plus grand nombre de microgels à l'interface, tout en restant dans le domaine de coalescence limitée. 3 mL d'hexadécane ou de dodécane sont alors ajoutés dans le même vial que la solution aqueuse. Ce dernier est placé pendant 1h dans une étuve à 25 °C (ou 50 °C pour les études en température) avant d'être agité avec l'Ultra-Turrax (axe S25 N-10G) pendant 30 s à la vitesse de 8 000 tr/min (taux de cisaillement :  $9 \cdot 10^3 \text{ s}^{-1}$ ) ou 13 500 tr/min (taux de cisaillement :  $15 \cdot 10^3 \text{ s}^{-1}$ ).

### **Microscopie optique**

La microscopie optique est une technique qui nous permet la caractérisation des microgels en solution mais également des émulsions de Pickering. Dans le cas des émulsions, nous pouvons évaluer la taille des gouttes, observer leur forme, estimer la dispersion de taille et déterminer l'état d'agrégation. Les observations microscopiques sont effectuées avec un

microscope droit Zeiss Axiovert X1000 équipé d'une caméra vidéo Axio Vision pour la prise d'images. Pour l'observation des émulsions, un échantillon est prélevé puis déposé sur une lame en verre.

### **Microscopie confocale**

La microscopie confocale permet de visualiser des « tranches » de l'échantillon en ne collectant que la lumière provenant d'un seul plan focal de l'échantillon et en excluant celle provenant du reste du volume. Un fluorochrome est tout d'abord ajouté à l'échantillon. Cette molécule éclairée à sa longueur d'onde d'excitation à l'aide d'une source laser cohérente réémet un rayonnement. Le microscope et l'optique du module de scan focalise la lumière émise par le point focal vers un second, appelé point confocal. Un diaphragme d'ouverture variable (« pinhole ») localisé au point confocal permet de trier le rayonnement en direction du détecteur : seule la lumière émise par le point focal est détectée. Une succession de coupes en Z de l'échantillon peut être obtenue permettant ainsi la reconstruction 3D de l'échantillon. Les observations sont effectuées sur un microscope Leica TCS-SP5 équipé d'un laser à argon et d'un objectif 100 X à immersion. Les échantillons de microgels sont analysés entre lame et lamelle.

### **Microscopie Electronique à balayage à froid (Cryo-MEB)**

Les analyses de cryo-MEB, effectuées sur un JEOL 6700FEG, permettent d'observer l'arrangement des particules à l'interface. Grâce à cette technique à forte résolution, il est possible d'imager directement l'interface des émulsions. Un échantillon de ces dernières est tout d'abord placé sur le porte-échantillon, puis rapidement congelé par une trempe dans de l'azote liquide. L'huile utilisée pour ces expériences est du dodécane, car sa température de fusion est basse (-9,6 °C), ce qui permet d'éviter la cristallisation de l'huile lors de la trempe. Il est ensuite transféré sous vide dans une chambre de préparation où le porte échantillon est maintenu à -150 °C sous un vide de  $10^{-5}$  Pa. C'est dans la chambre de préparation que l'on peut fracturer l'échantillon avec une lame. Dans certains cas, la température de la chambre est élevée à -95 °C pendant 5 minutes avant d'être à nouveau abaissée à -150 °C, dans le but de sublimer une partie de l'huile et de l'eau. L'échantillon est ensuite métallisé avec un alliage or-palladium sous flux d'argon. Il est ensuite introduit dans la chambre d'observation du microscope sur une platine, elle aussi refroidie à -150 °C.

## II.2.4. Fonctionnalisation des microgels

La réaction de couplage entre une amine et un acide peut être catalysée par le 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide (EDC) en solution aqueuse (cf Figure IV. 13). Dans certains cas, nous ferons le choix d'utiliser un agent de couplage insoluble dans l'eau mais soluble dans l'huile, le dicyclohexylcarbodiimide (DCC) (cf Figure IV. 13).

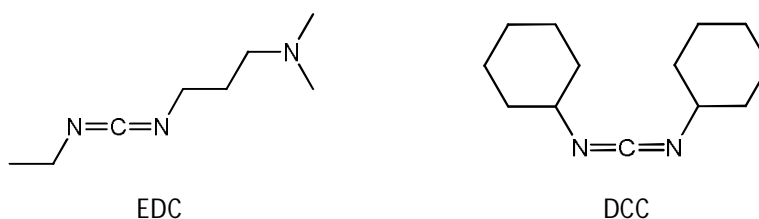


Figure IV. 13 : Structures chimiques de l'EDC et du DCC.

### Couplage des microgels en solution

Le couplage est d'abord réalisé en solution aqueuse sur les microgels « classiques ». 600 µl de solution de microgels (soit 3,2 mg de microgels) sont ajoutés à la quantité d'APBA dans un vial en verre. Cette dernière est calculée par rapport au nombre de fonctions COOH contenues dans les 600 µl de la solution de microgels (soit  $2,9 \cdot 10^6$  moles de COOH). Les quantités d'APBA et d'EDC utilisées sont répertoriées dans le Tableau IV. 1.

Tableau IV. 1 : Tableau récapitulatif des quantités d'APBA et d'EDC utilisées pour la fonctionnalisation en volume

Echantillon	Masse d'APBA (mg)	Masse EDC (mg)
NiAAcA4E4	2	2,1
NiAAcA4E8	2	4,2
NiAAcA8E8	4,1	4,2
NiAAcA8E16	4,1	8,4

Le pH de la solution est ajusté à 6 avec une solution de soude à 0,1 M. La quantité d'agent de couplage (EDC), également calculée par rapport au nombre de fonctions COOH, est dissoute dans 400  $\mu$ l d'eau désionisée. La réaction débute lorsque les deux solutions sont mélangées et se poursuit pendant 2 h sous agitation mécanique. Ensuite les microgels sont purifiés en réalisant 4 cycles de centrifugation-redispersion à 13 000 tr/min pendant 15 min.

### **Couplage des microgels à l'interface**

La même procédure est appliquée après adsorption des microgels à l'interface eau-huile, en substituant la phase aqueuse de l'émulsion par une phase aqueuse contenant les mêmes proportions de réactifs que pour le protocole en solution. Les étapes principales de la fonctionnalisation sont représentées sur la Figure IV. 14.

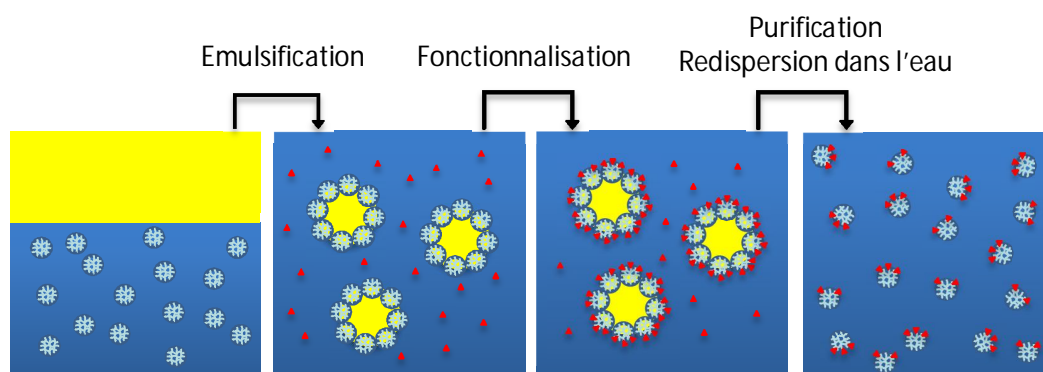


Figure IV. 14 : Schéma représentatif des différentes étapes clés de la fonctionnalisation des microgels à l'interface d'une émulsion de Pickering.

Lorsque les fonctionnalisations sont réalisées avec le DCC, avant émulsification un faible volume d'hexadécane est remplacé par le volume désiré de DCC solubilisé dans le toluène. Une fois les émulsions préparées et stockées pendant 24 h à 25 °C, pour s'assurer que le processus de coalescence limité soit terminé, la sous phase de l'émulsion est retirée et remplacée par de l'eau pure. Cette opération est renouvelée 3 fois dans le but d'éliminer les éventuels microgels qui ne seraient pas adsorbés à l'interface eau-huile. La sous-phase est ensuite remplacée par une solution aqueuse de 8 mL dans laquelle sont dissouts les réactifs aminés et dont le pH est ajusté à 6 avec une solution de soude 0,1 M. La fluorescéineamine, n'étant pas soluble dans l'eau, est au préalable solubilisée dans 0,5 mL d'éthanol pur à 99 %. Les quantités de greffon et d'agent de

couplage utilisées pour chaque fonctionnalisation sont répertoriées dans le Tableau IV. 2. Après 2 h de réaction, sous faible agitation mécanique, la réaction est stoppée en remplaçant la sous-phase par de l'eau désionisée. Cette opération est renouvelée 3 fois afin de s'assurer que l'émulsion soit bien rincée. La dernière sous-phase est remplacée par un minimum d'eau (1 mL). L'émulsion est ensuite déstabilisée par traitement thermique, en la stockant 15 min à 15 °C, pour cristalliser l'hexadécane, puis 15 min à 45 °C.

Tableau IV. 2 : Tableau récapitulatif des quantités de greffon et d'agent de couplage utilisées pour la fonctionnalisation à l'interface eau-huile. Les masses sont données pour un volume total de phase aqueuse de 8 mL.

Echantillon de microgels	Greffon (masse ou volume)	Nombre d'équivalent de greffon /COOH	Agent de couplage (masse ou volume)	Nombre d'équivalent d'agent de couplage /COOH
« Classique »	Fluorescéineamine (1,5 mg)	1 éq	EDC (9,2 mg)	9 éq
« Classique »	APBA (3,7 mg)	4 éq	EDC (7,6 mg)	8 éq
« Classique »	APBA (7,4 mg)	8 éq	EDC (7,6 mg)	8 éq
MmC7	Fluorescéineamine (1,5 mg)	0,5 éq	EDC (9,2 mg)	4 éq
MmC30	Fluorescéineamine (1,5 mg)	0,5 éq	EDC (9,2 mg)	4 éq
MmP10	Fluorescéineamine (1,5 mg)	1 éq	EDC (9,2 mg)	12 éq
MmC7	Fluorescéineamine (1,5 mg)	0,5 éq	DCC (485 µl à 0,1 M)	4 éq
MmC30	Fluorescéineamine (1,5 mg)	0,5 éq	DCC (485 µl à 0,1 M)	4 éq
MmP10	Fluorescéineamine (1,5 mg)	1 éq	DCC (485 µl à 0,1 M)	12 éq
MmP10	APBA (2,5 mg)	4 éq	EDC (3 mg)	4 éq
MmP10	APBA (6,2 mg)	10 éq	EDC (7,7 mg)	10 éq
MmP10	ED (160 µl à 0,1 M)	4 éq	EDC (3 mg)	4 éq
MmP10	ED (160 µl à 0,1 M)	4 éq	DCC (160 µl à 0,1 M)	4 éq
MmC30	ED (520 µl à 0,1 M)	4 éq	DCC (520 µl à 0,1 M)	4 éq

L'opération est répétée autant de fois que nécessaire jusqu'à ce que l'émulsion soit totalement déstabilisée. La phase huile, qui surnage, est alors retirée. Dans le but de laver les microgels, 15 mL de tétrahydrofuran (THF) sont ajoutés dans le vial en verre. La solution est ensuite transférée dans un tube de centrifugation en Téflon puis agitée grâce à un vortex avant centrifugation. Les microgels classiques sont centrifugés à 14 000 tr/min et les microgels micrométriques à 8 000 tr/min pendant 30 min à 25 °C. Le maximum de THF surnageant est ensuite retiré, puis du THF est de nouveau ajouté. Ce cycle est répété 3 fois afin d'éliminer complètement l'huile. Les microgels précipités sont ensuite séchés sous vide pendant 12 h, puis redispersés dans 1 mL d'eau pure pendant 24 h à l'aide d'un vortex. La suspension finale est stockée à 4 °C jusqu'à utilisation.

### III. Synthèse et caractérisation des microgels

#### III.1. Microgels classiques

Après la synthèse et la purification, les microgels de poly(NIPAM-co-AAc) sont caractérisés par DLS et par TEM dont les résultats sont présentés Figure IV. 15.

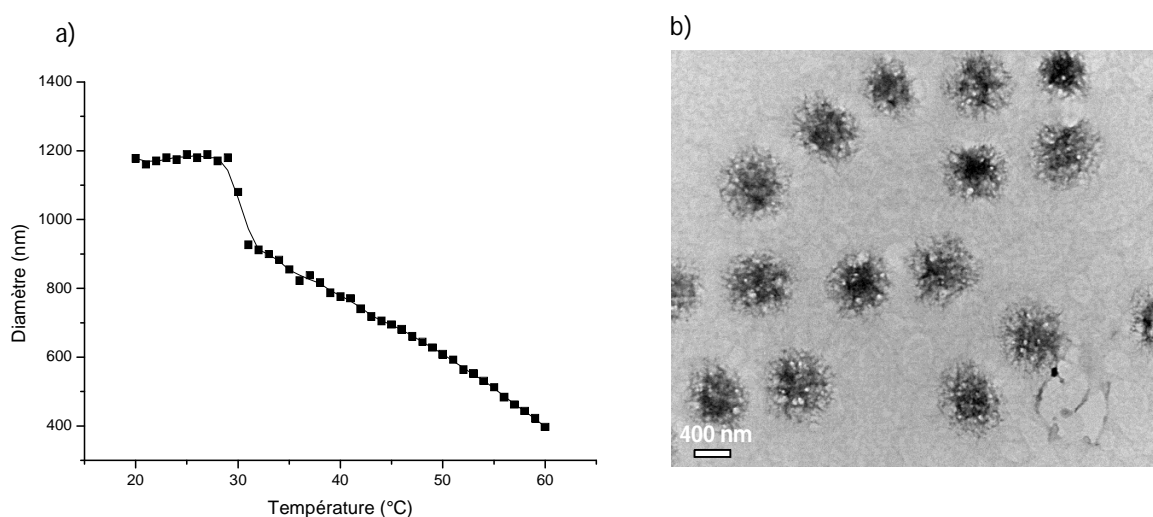


Figure IV. 15 : a) Evolution du diamètre hydrodynamique des microgels en fonction de la température dans l'eau pure (pH 6). b) Image TEM des microgels séchés sur une grille et révélés avec de l'acétate d'uranyle. La barre d'échelle représente 400 nm.

Nous constatons que le diamètre hydrodynamique des microgels à 25 °C est bien plus élevé que celui des microgels de poly(NIPAM) neutres étudiés dans le chapitre III. La présence de charges favorise le gonflement des microgels par répulsion électrostatique et pression osmotique des contre-ions mobiles à l'intérieur du réseau. L'évolution du diamètre en fonction de la température est également affectée par la présence des charges. Contrairement aux microgels de poly(NIPAM) neutres, la transition de phase volumique est étendue sur une large gamme de température. Les charges négatives provoquent non seulement le gonflement des microgels, mais s'opposent également à leur contraction pour les mêmes raisons. Les forces élastiques qui s'opposent au gonflement sont faibles dans ce cas, puisque les microgels ne contiennent que 0,5 % molaire de réticulant. Cette faible réticulation se traduit, en microscopie électronique par une structure très ramifiée de la matrice polymère (cf Figure IV. 15. b).

### III.2. Microgels micrométriques

La composition des solutions ainsi que le diamètre des microgels sont répertoriés dans le Tableau IV. 3.

Tableau IV. 3 : Tableau récapitulatif de la composition des solutions de synthèse pour chaque échantillon et du diamètre mesuré en microscopie optique

Echantillon	Composition de la solution de germes (cœurs)		Composition de la solution d'écorce			Diamètre à 25 °C pH 6 (μm)
	% molaire NIPAM	% molaire BIS	% molaire NIPAM	% molaire BIS	% molaire AAc	
<b>MmC7</b>	100	-	84,2	0,7	15	8,4
<b>MmP10</b>	99	1	89	1	10	4,3
<b>MmC30</b>	100	-	89	3	10	2,8

On remarque alors que la variation du taux de réticulation a un impact conséquent sur le diamètre des matériaux. En effet, lorsque la quantité de BIS dans l'écorce est divisée par 4, le diamètre augmente d'un facteur 3. L'observation de ces matériaux par microscopie optique et par TEM permet d'apprécier la morphologie des microgels (cf Figure IV. 16). En effet, pour les microgels MmC7 et MmC30, on remarque que la périphérie des microgels apparaît plus contrasté que le



centre sur une faible épaisseur, contrairement aux microgels MmP10 qui possèdent un cœur très contrasté et une écorce qui l'est beaucoup moins. Ces observations sont la preuve que les deux échantillons MmC ne possèdent pas de cœur, alors que les MmP10 ont un cœur très réticulé et une écorce qui possède une réticulation homogène, car elle est préparée en semi-batch. Les images TEM rendent moins compte de ces structures car les microgels sont séchés et ils s'effondrent sur eux-mêmes.

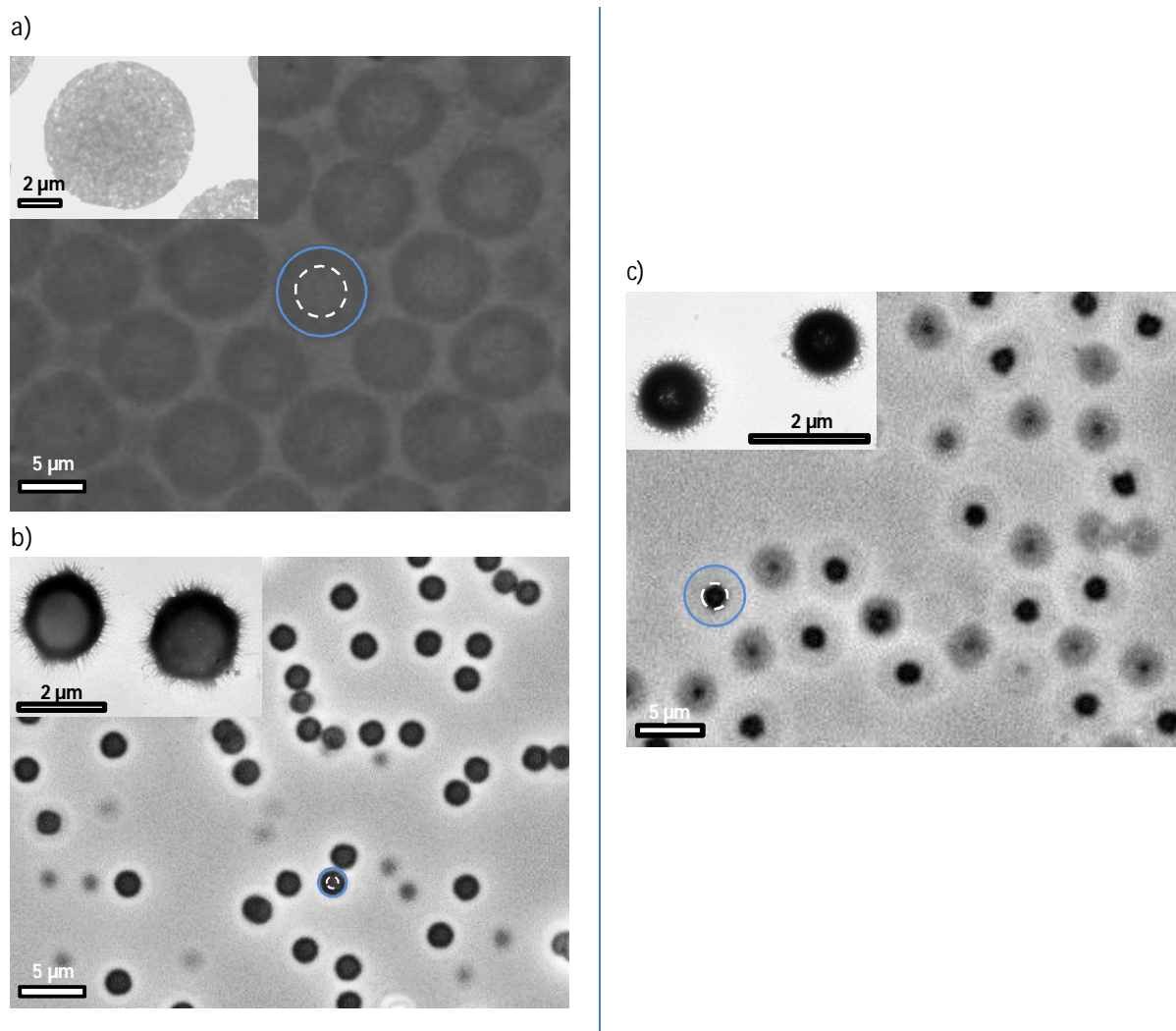


Figure IV. 16 : Cliché de microscopie optique des microgels a) MmC7, b) MmC30 et c) MmP10. Les inserts en haut à gauche sont des clichés de TEM. Les schémas sur les images rappellent la structure interne des microgels. Les barres d'échelle représentent 5 μm pour la microscopie optique et 2 μm pour les images TEM.

## IV. Etude du comportement des microgels à l'interface eau-huile

### IV.1. Cas des microgels « classiques »

Le comportement à l'interface eau/huile des microgels classiques a déjà été étudié par notre équipe.<sup>57</sup> Cette étude est réalisée dans le régime de coalescence limitée, c'est-à-dire en défaut de microgels par rapport à la quantité d'interface créée. Les résultats sont rappelés ci-dessous. Globalement, les microgels chargés se comportent comme les microgels de poly(NIPAM) neutres. Des émulsions d'huile dans l'eau, stabilisées par des microgels sont obtenues par émulsification avec l'Ultra-Turrax. Les gouttes crèment sous l'effet de la différence de densité entre l'huile et l'eau. Dans la plupart des cas, les gouttes sont adhésives, ce qui engendre une floculation de l'émulsion. Elles sont caractérisées par un angle d'adhésion entre les gouttes. Selon le taux de cisaillement et le taux de réticulation, il a été montré que l'adhésion pouvait être modulée. Lorsque le taux de réticulation est faible (inférieur à 0,5 % molaire), des émulsions non floculées (non adhésives) sont obtenues à faible taux de cisaillement ( $11.10^3 \text{ s}^{-1}$ ), alors qu'elles sont adhésives à fort taux de cisaillement ( $18.10^3 \text{ s}^{-1}$ ) (cf Figure IV. 17).

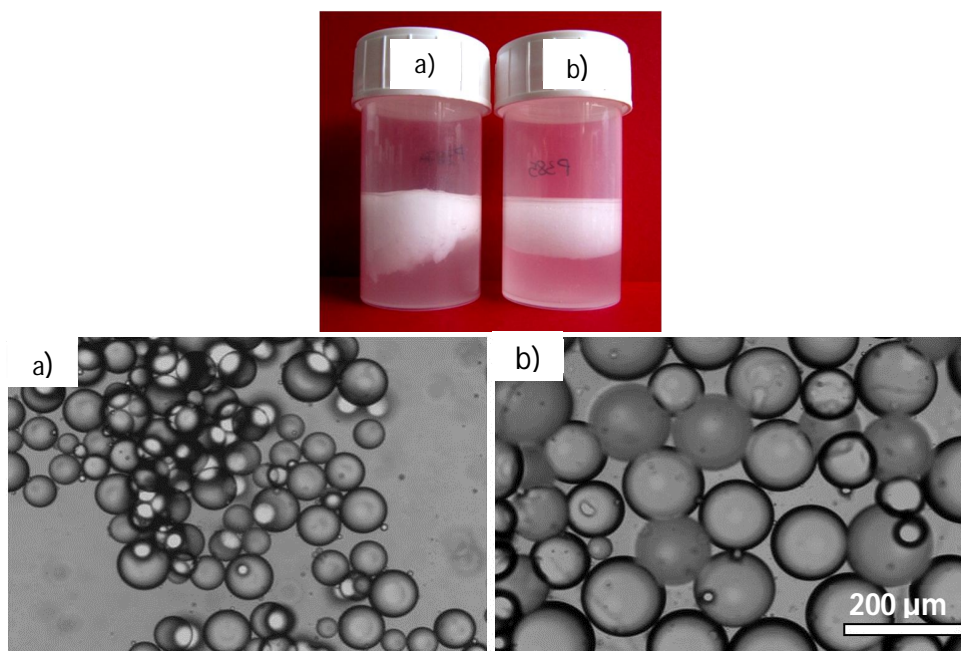


Figure IV. 17 : Photographie (au-dessus) et clichés de microscopie optique (en-dessous) d'émulsions stabilisées par des microgels classiques contenant 0,5 % molaire de BIS, préparées a) à fort taux de cisaillement ( $18.10^3 \text{ s}^{-1}$ ) et b) à faible taux de cisaillement ( $11.10^3 \text{ s}^{-1}$ ). La barre d'échelle représente 200  $\mu\text{m}$  (identique pour les deux images).

L'analyse de l'organisation des microgels à l'interface eau/huile, établie par cryo-MEB et par coalescence limitée, révèle que la conformation des microgels diffère dans ces deux cas : on passe d'une conformation où ils sont aplatis (la distance centre à centre est plus grande que le diamètre hydrodynamique des microgels en solution), à une conformation où ils sont comprimés latéralement (la distance centre à centre est plus petite que leur diamètre hydrodynamique en solution) (cf Figure IV. 18). Les microgels chargés s'organisent également suivant un empilement hexagonal comme les microgels de poly(NIPAM) neutres.

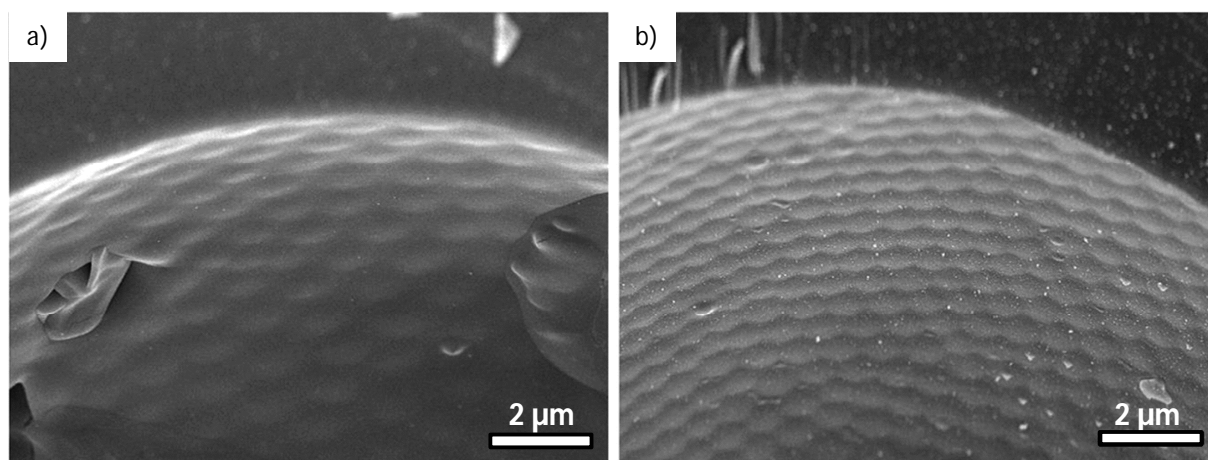


Figure IV. 18 :Clichés de cryo-MEB de gouttes d'émulsions stabilisées par des microgels classiques contenant 0,5 % molaire de BIS préparées a) à fort taux de cisaillement ( $18.10^3 \text{ s}^{-1}$ ) et b) à faible taux de cisaillement ( $11.10^3 \text{ s}^{-1}$ ). Les barres d'échelle représentent 2  $\mu\text{m}$ .

Lorsque le taux de réticulation est plus élevé (typiquement 2,5 % molaire), il n'a pas été possible de mettre en évidence une influence de l'énergie d'émulsification sur la conformation des microgels, car les faibles énergies ne permettent pas d'adsorber ces microgels. Aucune émulsion formée dans ce cas n'est stable.

Cette étude a permis de comprendre :

- qu'il existe un lien entre conformation des microgels et propriétés macroscopiques de l'émulsion. L'homogénéité de la couverture à l'interface, obtenue lorsque les microgels sont comprimés, permet d'éviter la mise en commun de microgels entre deux interfaces et ainsi d'éviter les phénomènes de pontage (comme discuté dans le paragraphe II.3.2 du chapitre III) ;

- que cette modulation de conformation est obtenue pour des microgels ayant une cinétique d'adsorption rapide. Les microgels ayant une cinétique d'adsorption lente (taux de réticulation trop élevé) ne s'adsorbent pas suffisamment vite pour stabiliser une émulsion formée par des processus d'émulsification douce.

## IV.2. Cas des microgels micrométriques

Les émulsions sont préparées avec un Ultra-Turrax équipé d'un petit axe. Des émulsions d'huile dans l'eau sont obtenues dans tous les cas. Elles sont stables dans le temps, crèment sous l'effet de la différence de densité entre l'eau et l'huile et sont floculées, quelle que soit la vitesse d'émulsification ou le lot de microgels utilisé. Cet état d'adhésion permanent n'est pas surprenant. En effet, les travaux réalisés par l'équipe de V. Schmitt et V. Ravaine sur l'influence de la taille des microgels ont permis de montrer que l'augmentation de la taille des microgels favorisait les phénomènes d'adhésion, du fait de l'inhomogénéité de la couche de polymère à l'interface.<sup>58</sup> Dans le cas présent, les microgels utilisés sont plus gros que les microgels « classiques ». Le phénomène d'adhésion est donc naturellement renforcé. L'émulsification à des taux de cisaillement variables ne permet pas de moduler l'état d'adsorption des microgels, probablement car leur cinétique d'adsorption est encore plus lente que pour des microgels « classiques ».

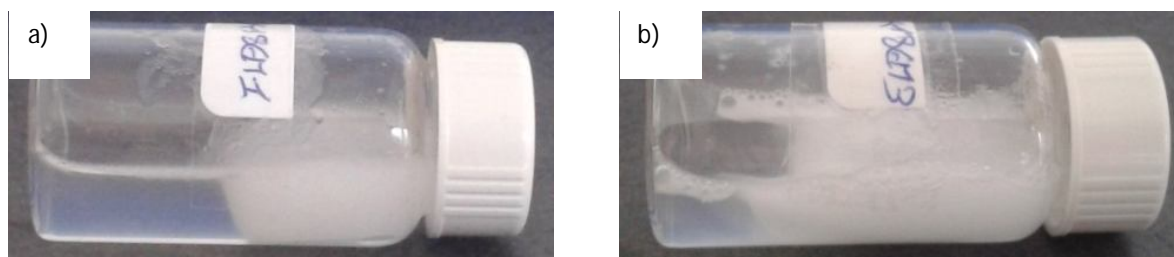


Figure IV. 19 : Photographies des émulsions préparées avec les microgels MmC7 a) à 8 000 tr/min ( $9.10^3 \text{ s}^{-1}$ ) et b) à 13 500 tr/min ( $15.10^3 \text{ s}^{-1}$ ).

Afin d'aller plus loin dans la connaissance des émulsions stabilisées par ces microgels micrométriques, l'organisation des microgels à l'interface a été étudiée par cryo-MEB. Les

microgels sont à une concentration relativement faible de 0,01 % massique, qui permet de se placer dans des conditions de coalescence limitée.

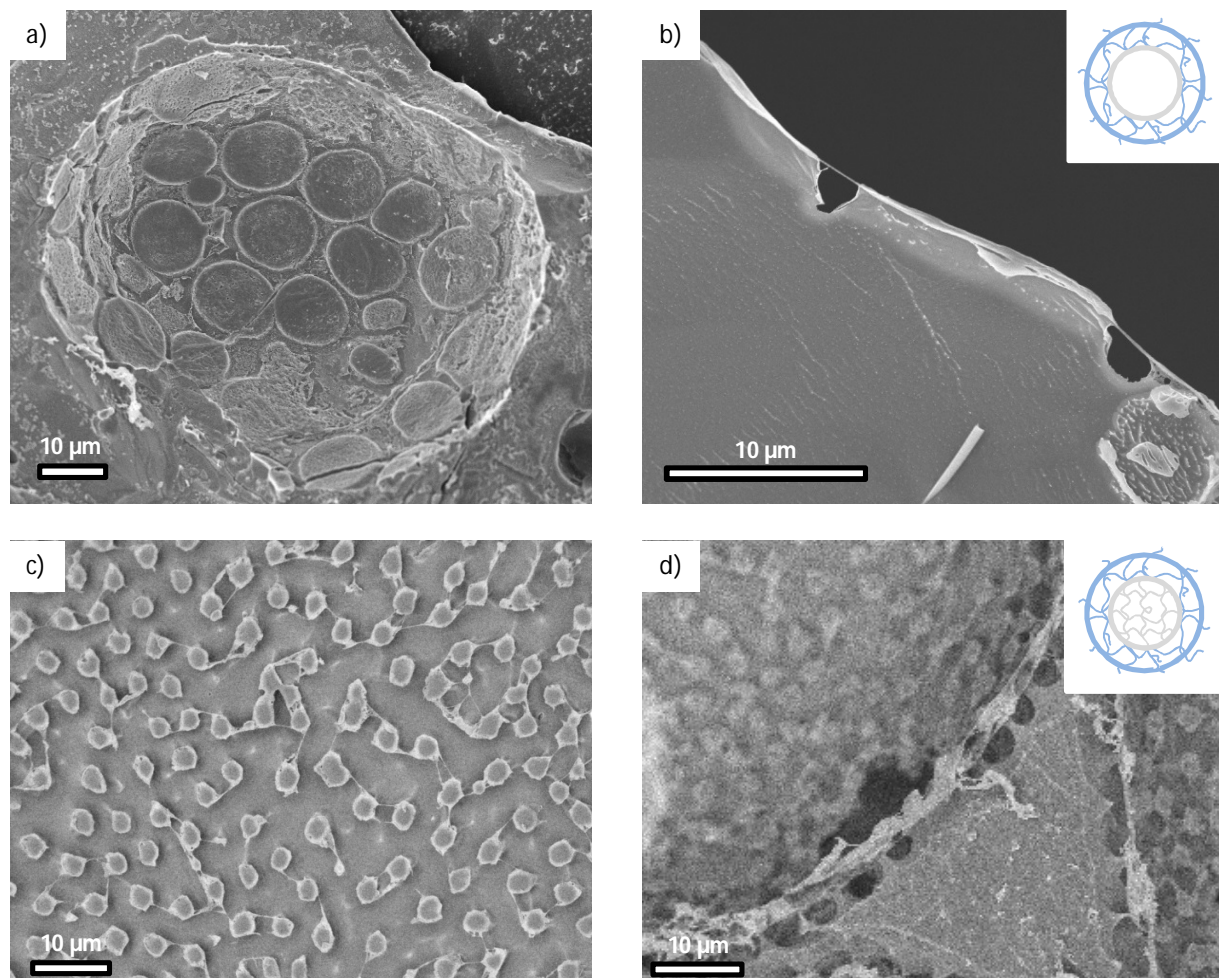


Figure IV. 20 : Clichés de cryo-MEB a), c) vue du dessus et b),d) vue de profil des microgels a), b) MmC7 et c), d) MmP10 à l'interface d'émulsions préparées à 13 500 tr/min ( $15 \cdot 10^3 \text{ s}^{-1}$ ) à 25 °C. La concentration initiale de microgels dans la phase aqueuse est de 0,01 % massique.

Pour les deux échantillons, la vue de dessus des microgels adsorbés montre que les microgels ne sont pas en contact, mais ceci est lié à la technique de sublimation. Toutefois, les filaments de polymère restant montrent l'existence de connections qui témoignent d'un contact initial entre les microgels avant sublimation. Dans les deux cas, les microgels sont organisés selon un empilement hexagonal. Cependant, on observe la présence de plusieurs défauts causés par l'hétérogénéité de taille. Pour les microgels MmC7, les objets sont tellement gros qu'il n'est



pas possible d'en observer un grand nombre par goutte. Cependant, on voit bien que les microgels épousent la forme de la goutte. Ils sont déformés sous forme de disque plat comme en témoigne la vue de profil (cf Figure IV. 20. b). Leur faible nombre et l'hétérogénéité de leur distribution de taille empêchent d'aller plus loin dans l'analyse. La vue de profil des microgels MmP10 permet de constater que les particules se déforment beaucoup moins que les microgels creux (cf Figure IV. 20. d). La présence d'un cœur réticulé empêche la structure de s'aplatir totalement à l'interface. La distance centre à centre ( $d_{cc}$ ) qui sépare les microgels est estimée à partir des clichés de cryo-MEB. Le Tableau IV. 4 regroupe les données obtenues par cette étude.

Tableau IV. 4 : Récapitulatif des distances centre-à-centre mesurées à partir des clichés de cryo-MEB.

<b>Echantillon</b>	<b>Diamètre des microgels à 25 °C pH 6 (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b><math>d_{cc}</math> des émulsions préparées à 25 °C (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b><math>d_{cc}</math> des émulsions préparées à 50 °C et refroidies à 25 °C (<math>\mu\text{m}</math>)</b>
<b>MmC7</b>	8,4	11,2	9,8
<b>MmP10</b>	4,3	5,5	Non étudié

Quelle que soit la structure interne des microgels, lorsque les émulsions sont préparées à 25 °C, la distance centre à centre est supérieure au diamètre hydrodynamique des microgels dispersés dans l'eau pure. Comme les microgels classiques, les particules micrométriques ont également la capacité à s'adsorber dans une conformation aplatie à l'interface eau-huile. Dans le but de favoriser la conformation comprimée, un essai d'adsorption des microgels à une température supérieure à la VPTT a été réalisé, suivi d'une trempe à température ambiante. La distance centre à centre est de 9,8  $\mu\text{m}$  dans ces conditions, ce qui est inférieur à celle obtenue par émulsification à 25 °C, mais supérieur au diamètre hydrodynamique des microgels en solution. La conformation comprimée des microgels n'a donc pas été atteinte.

Ainsi, les microgels de taille supérieure au micromètre ont également la capacité de s'adsorber et de se déformer à une interface eau-huile. Les essais de dissymétrisation auront lieu sur ces microgels aplatis, plus ou moins déformés selon la présence ou non d'un cœur.

## V. Fonctionnalisation des microgels à l'interface eau-huile

### V.1. Etude sur les microgels « classiques »

#### V.1.1. Mise en évidence de la dissymétrisation des microgels

Dans le but d'obtenir une preuve visuelle de la dissymétrisation des microgels, nous avons choisi de les fonctionnaliser avec une molécule fluorescente. Ainsi l'observation des particules en microscopie à fluorescence (épifluorescence) permettra d'apprécier ou non le caractère Janus de microgels et de comparer les résultats entre les différentes conformations. Pour cela nous avons sélectionné une molécule fluorescente qui possède une amine primaire, la fluorescéinamine. Les fonctionnalisations des microgels sont alors réalisées à l'interface d'émulsions préparées à 8 000 tr/min et 13 500 tr/min afin d'étudier les deux conformations différentes. Contrairement aux particules solides, il n'apparaît pas nécessaire de solidifier la phase huile, car du fait de leur déformation à l'interface et de l'adsorption de multiples segments de polymères, la rotation des microgels est peu probable. Les clichés d'épifluorescence sont présentés Figure IV. 21. Cette technique nous permet de mettre en évidence que la dissymétrisation des microgels est possible, lorsqu'ils sont adsorbés à la surface de gouttes d'huile. Les images montrent que les microgels sont entièrement fluorescents et que la plupart d'entre eux possède une zone où la fluorescence est plus prononcée (arc de cercle à la périphérie des microgels). Ces résultats suggèrent que la totalité des microgels est accessible par les réactifs hydrosolubles et qu'une zone est préférentiellement fonctionnalisée. Bien que les microgels soient fonctionnalisés dans deux conformations différentes, la morphologie des particules semble identique. Les principales différences notables entre les deux échantillons sont que les émulsions floculées (forte énergie) permettent de récupérer une plus grande quantité de microgels et que le rendement est également bien meilleur. L'estimation de ce dernier est compliquée, car le photoblanchiment de la fluorescéinamine est trop rapide pour pouvoir capturer des plans larges de microgels avec un contraste homogène. L'orientation des microgels est également un obstacle, car la zone la plus fonctionnalisée n'est pas toujours visible. D'après nos observations, le rendement semble élevé, surtout lorsque les émulsions sont préparées avec une forte énergie d'agitation.

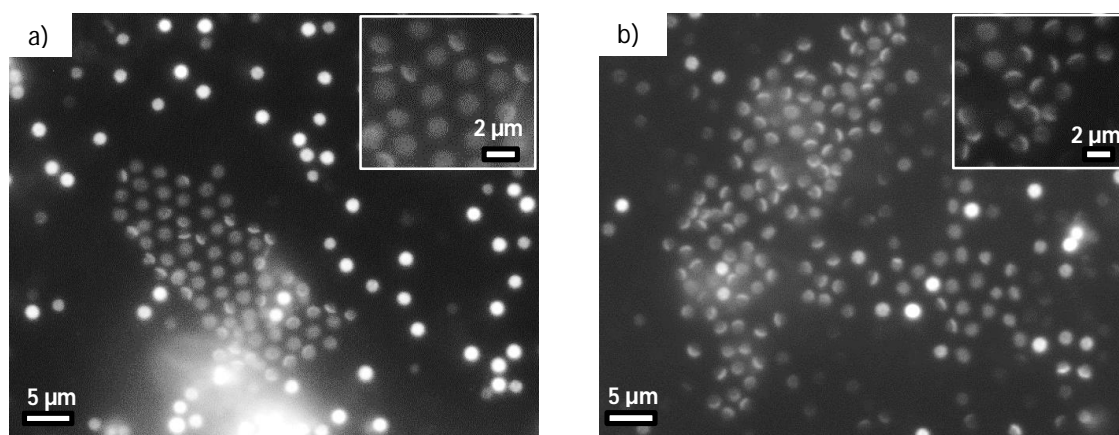


Figure IV. 21 : Images de microscopie à fluorescence de microgels « classiques » fonctionnalisés à l'interface d'une émulsion préparée à 8 000 tr/min ( $9.10^3 \text{ s}^{-1}$ ) et b) 13 500 tr/min ( $15.10^3 \text{ s}^{-1}$ ). Les barres d'échelle représentent 5 µm. Les inserts sont des zooms sur des microgels dissymétriques. Les barres d'échelle représentent 2 µm.

Grâce à la fluorescence, nous avons pu mettre en évidence que la fonctionnalisation des microgels adsorbés à l'interface permet l'obtention de microgels Janus. Conformément à ce que nous pensions, il n'est pas nécessaire de figer la phase huile pour empêcher la rotation des microgels, comme c'est le cas pour la dissymétrisation des particules solides.<sup>9,10</sup> Cependant cette méthode ne nous a pas permis d'observer de différence entre les deux conditions de préparation des émulsions, bien que la conformation des microgels soit différente. L'objectif est à présent de fonctionnaliser les microgels par cette méthode, mais avec un dérivé de l'acide phénylboronique.

### V.1.2. Dissymétrisation d'hydrophobie des microgels

Nous allons à présent étudier la fonctionnalisation des microgels par le récepteur au glucose dans le but de concevoir des microgels dissymétriques aussi bien au niveau de la composition chimique de chaque hémisphère que de leur taux de gonflement. Avant la fonctionnalisation à l'interface, nous avons effectué des tests en solution afin de déterminer le taux de gonflement des microgels en fonction des quantités d'acide phénylboronique greffées.

#### V.1.2.1. Fonctionnalisation des microgels en volume

Plusieurs conditions différentes ont été testées et sont répertoriées, ainsi que les diamètres hydrodynamiques des microgels à 25 °C, dans le Tableau IV. 5.



Tableau IV. 5 : Tableau récapitulatif des conditions de fonctionnalisation et du diamètre hydrodynamique à 25 °C dans l'eau pure pour chaque échantillon

Echantillon	Nombre d'équivalent d'APBA	Nombre d'équivalent d'EDC	$d_H^*$ (nm) T= 25°C (PDI)
NiAAcA4E4	4	4	593 (0,19)
NiAAcA4E8	4	8	342 (0,14)
NiAAcA8E8	8	8	319 (0,06)
NiAAcA8E16	8	16	344 (0,10)

\*Le diamètre initial des microgels dans les mêmes conditions est de 1 200 nm.

On constate que plus la quantité de réactif utilisée pour la fonctionnalisation augmente, plus le diamètre des microgels diminue à température ambiante. L'introduction de fonctions phénylboroniques contribue donc à renforcer le caractère hydrophobe des microgels. La distribution des fonctions PBA dans les microgels peut être visualisée par épifluorescence, grâce à la complexation de l'alizarine (ARS) par l'APBA, qui provoque l'apparition d'une fluorescence, alors que l'ARS non complexé en solution n'est pas fluorescent. Le mécanisme de ce phénomène est présenté Figure IV. 22. Lorsque cette molécule n'est pas complexée, la fluorescence est quenchée par un transfert de proton qui a lieu entre un groupement hydroxyle et un groupement carbonyle. Une fois complexée, l'alizarine ne possède plus de protons labiles, ce qui permet l'émission d'un signal de fluorescence et de localiser les dérivés de l'acide phénylboronique en épifluorescence. Une image d'épifluorescence de chaque échantillon est présentée Figure IV. 22.

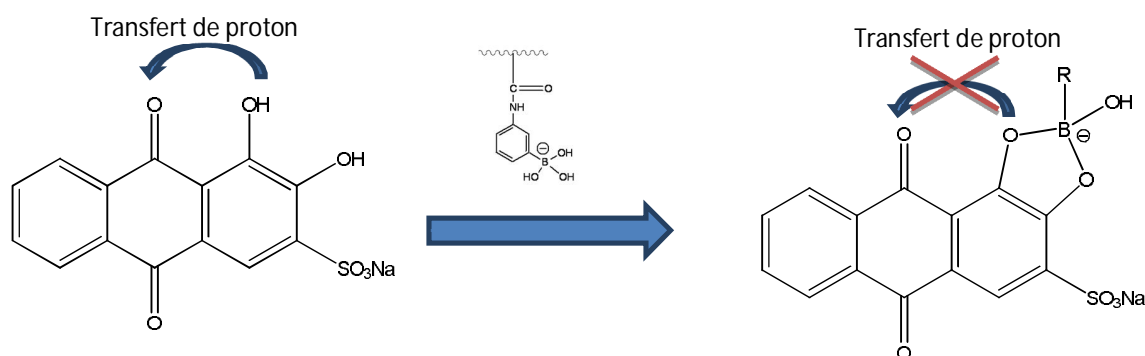


Figure IV. 22 : Structure chimique de l'alizarine avant et après complexation avec le dérivé de l'acide phénylboronique.

Les images des microgels observés en épifluorescence sont présentés Figure IV. 23.

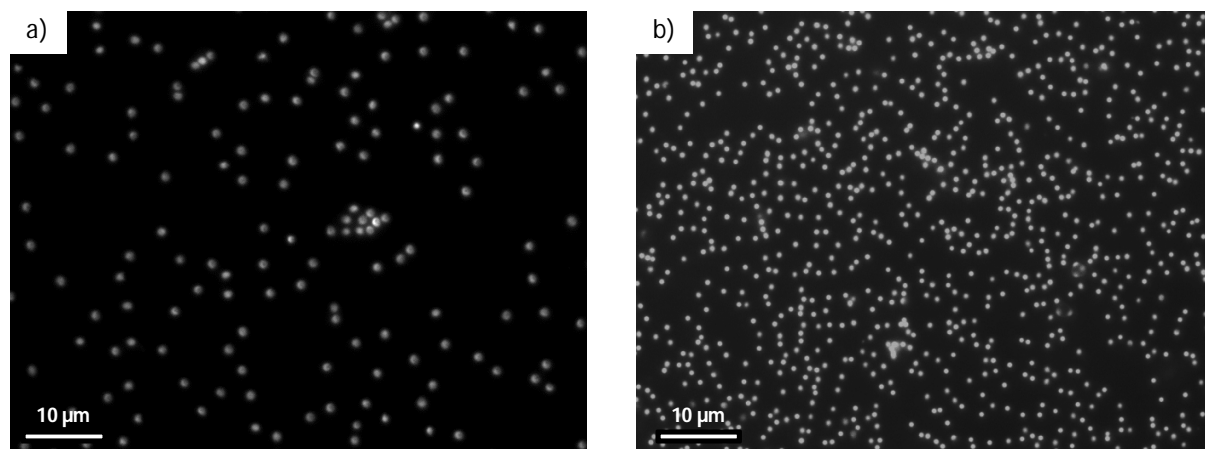


Figure IV. 23 : Image de microscopie à fluorescence des microgels a) NiAAcA4E4 et b) NiAAcA8E16 fonctionnalisés avec l'APBA et l'EDC. Les microgels sont dispersés dans du PBS 4 mM pH 8,5 contenant 0,5 mM d'ARS. Les barres d'échelle représentent 10 µm.

Les clichés de microscopie permettent de mettre en évidence que la fluorescence est localisée dans les microgels et que la solution n'est pas fluorescente. Ces images permettent donc de conclure que les acides phénylboroniques ont été greffés avec succès.

L'évolution de la mobilité électrophorétique en fonction du pH a été étudiée pour chaque échantillon : les résultats sont tracés Figure IV. 24. Lorsque les microgels ne sont pas fonctionnalisés, la mobilité électrophorétique diminue lorsque le pH augmente à cause de la déprotonation des fonctions acides carboxyliques. Les échantillons fonctionnalisés, avec le même nombre d'équivalent d'APBA et d'EDC, ont une mobilité électrophorétique plus faible (en valeur absolue) que celle des microgels, ce qui prouve la réussite du greffage de l'APBA neutre pour un pH inférieur à son pKa (8,5) sur les acides carboxyliques chargés. Lorsque les microgels sont fonctionnalisés avec un excès d'EDC par rapport au réactif aminé, la mobilité est positive à pH acide et devient à nouveau négative pour un pH compris entre 5 et 6. Ce comportement peut s'expliquer par la présence d'acides carboxyliques activés par l'agent de couplage qui est chargé positivement. A pH acide, lorsque les acides sont protonés, le caractère cationique de l'agent de couplage domine. Lorsque l'amine tertiaire de l'EDC se déprotone (augmentation du pH), les microgels retrouvent leur caractère anionique.

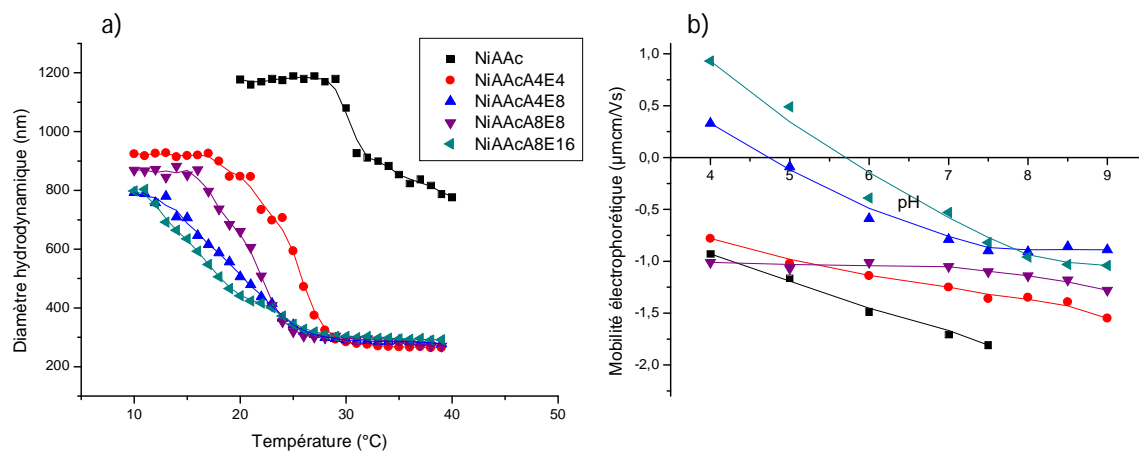


Figure IV. 24 : Evolution a) du diamètre hydrodynamique des microgels en fonction de la température dans l'eau pure et b) de la mobilité électrophorétique en fonction du pH pour les différents échantillons de microgels.

L'évolution du diamètre en fonction de la température est étudiée afin d'identifier les températures de transition de phase de chaque échantillon. La quantité d'APBA introduite lors de la fonctionnalisation est responsable d'une diminution de la VPTT. Ceci indique une augmentation de l'hydrophobie de la matrice, liée à une augmentation de greffons d'acide phénylboronique. Ainsi, indirectement, cette étude nous permet de conclure que la quantité d'APBA greffée sur la matrice augmente quand le nombre d'équivalents passe de 4 à 8. La fonctionnalisation totale des groupes COOH n'est donc pas atteinte. Pour la même quantité d'APBA, lorsque l'on double la quantité d'EDC, la transition de phase est plus basse. Ceci peut être attribué soit à un meilleur greffage de l'APBA, soit à un effet polyampholyte, qui proviendrait du greffage de l'agent de couplage lui-même, lorsque celui-ci est en excès. Dès lors que les microgels sont fonctionnalisés avec 4 équivalents d'APBA, ils sont contractés à température ambiante, ce qui est recherché pour la suite

#### V.1.2.2. Fonctionnalisation des microgels « classiques » à l'interface

La fonctionnalisation des microgels par l'APBA est à présent réalisée à l'interface d'émulsions de Pickering. Ces dernières sont préparées dans le régime de coalescence limitée. Ainsi tous les microgels mis en solution sont adsorbés à l'interface eau/huile. De cette manière, nous pouvons estimer la quantité de groupement COOH et calculer les quantités d'APBA et

d'EDC nécessaire pour la fonctionnalisation. Deux conditions différentes qui permettent de greffer suffisamment d'APBA pour synthétiser un microgel dont la VPTT est inférieure à la température ambiante ont été testées : 4 ou 8 équivalents d'APBA et 8 équivalents d'EDC. Chacune de ces conditions de fonctionnalisation a été utilisée pour des émulsions préparées à deux taux de cisaillement différents. Les conditions de préparation sont résumées dans le Tableau IV. 6.

Tableau IV. 6 : Tableau récapitulatif des conditions de fonctionnalisation de chaque échantillon.

<b>Echantillon</b>	<b>Nombre d'équivalents d'APBA</b>	<b>Nombre d'équivalents d'EDC</b>	<b>Vitesse d'émulsification (tours/min)</b>
<b>EmA4E8-8000</b>	4	8	8 000
<b>EmA4E8-13500</b>	4	8	13 500
<b>EmA8E8-8000</b>	8	8	8 000
<b>EmA8E8-13500</b>	8	8	13 500

Lorsque les émulsions sont préparées à 8 000 tr/min, elles se déstabilisent totalement lors de la fonctionnalisation, alors qu'elles sont beaucoup plus stables lorsqu'elles sont préparées à 13 500 tr/min. La déstabilisation des émulsions signifie que les propriétés mécaniques des interfaces subissent une évolution pendant l'étape de fonctionnalisation, soit par une évolution de l'élasticité, soit par une désorption des microgels. Cette évolution peut s'expliquer par la contraction des microgels provoquée par la fonctionnalisation avec l'APBA.

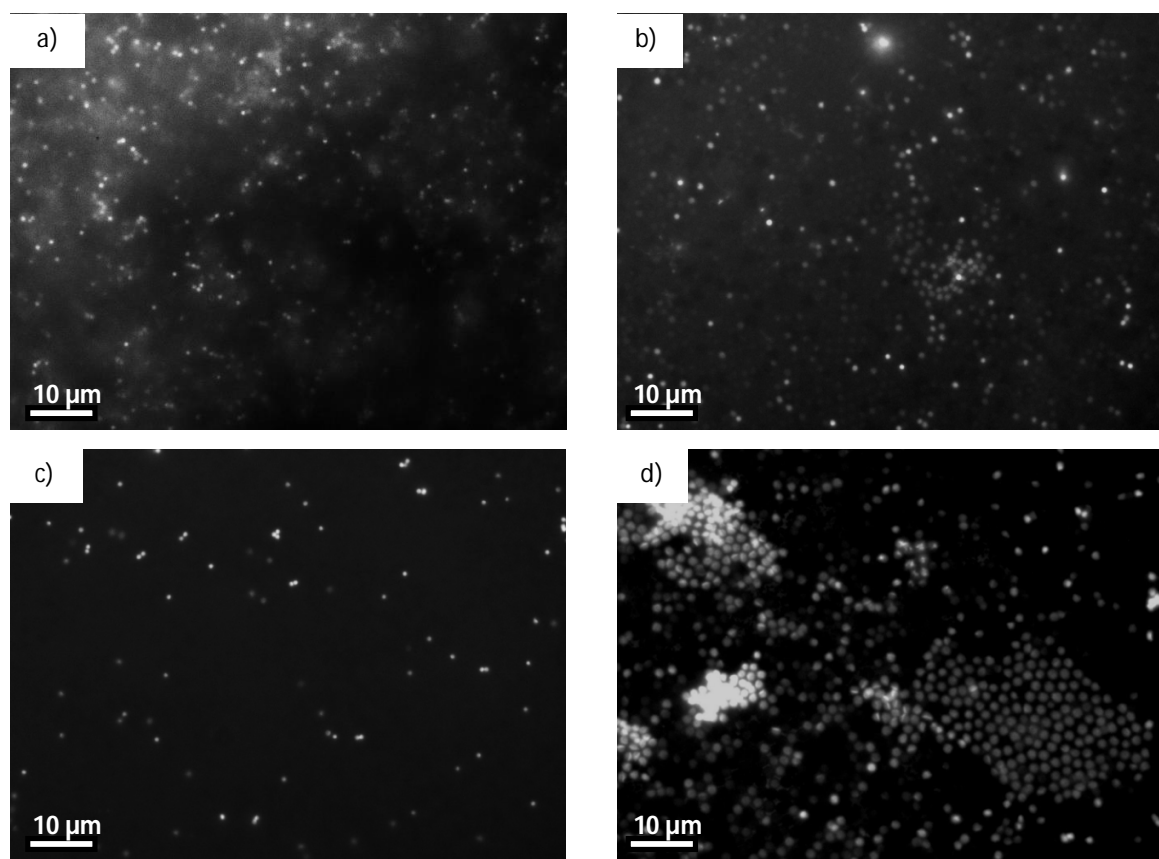


Figure IV. 25 : Image de microscopie à fluorescence de microgels « classiques » fonctionnalisés a), b) avec 4 équivalents d'APBA et équivalents d'EDC ou c), d) avec 8 équivalents d'APBA et 8 équivalents d'EDC à l'interface d'une émulsion préparée à 8 000 tr/min (image de gauche) et à 13 500 tr/min (image de droite). Les microgels sont dispersés dans du PBS 4 mM pH 8,5 contenant 0,5 mM d'ARS. Les barres d'échelle représentent 10 µm.

D'après les observations en épifluorescence (cf Figure IV. 25), on remarque que l'intégralité des microgels est fonctionnalisée par l'APBA. De plus, pour la plupart des microgels la fluorescence est homogène au sein d'une même particule. Uniquement dans l'échantillon EmA8E8-13500 des microgels Janus ont pu être identifiés et sont présentés Figure IV. 26 qui est un grossissement du cliché présenté Figure IV. 25. d. Cette image permet de mettre en évidence le caractère dissymétrique des microgels, qui est identique à celui observé avec la fluorescéineamine. Cependant le nombre de microgels qui possèdent cette caractéristique est très faible comparé au nombre de microgels observés.

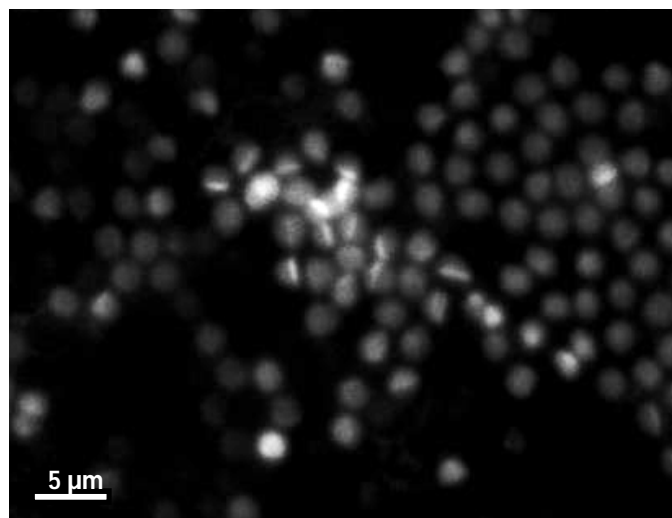


Figure IV. 26 : Image de microscopie à fluorescence des microgels EmA8E8-13500. La barre d'échelle représente 5  $\mu\text{m}$ .

En ce qui concerne les microgels issus des émulsions préparées à 8 000 tr/min, il n'est pas surprenant qu'ils soient tous homogènes, car lorsque l'émulsion se déstabilise, les microgels retournent en phase aqueuse, là où la globalité de la matrice peut être fonctionnalisée. Il est également difficile de distinguer une dissymétrie, car le diamètre des microgels fonctionnalisés est faible. Ce problème, lié à la taille, est peut-être la raison pour laquelle nous n'observons pas de microgels Janus dans l'échantillon EmAE8-13500, alors qu'une grande partie de l'émulsion n'est pas déstabilisée.

Ces premières études ont permis de mettre en évidence que la préparation de microgels Janus est possible à l'interface des émulsions de Pickering. Une fois la preuve de ce concept établie avec la molécule fluorescente, les microgels sont fonctionnalisés avec les dérivés de l'acide phénylboronique. Cette seconde série d'expériences a permis de montrer que les microgels ont tendance à se désorber de l'interface lorsqu'ils sont fonctionnalisés par l'APBA et ce d'autant plus que l'émulsion est fragile. L'émulsion préparée à 13 500 tr/min s'est montrée plus résistante face à cette désorption. Ces dernières analyses ont également révélé le problème de la caractérisation des objets formés, ceux-ci étant trop petits pour être analysés par microscopie optique. Ainsi nous avons choisi de poursuivre nos travaux avec des microgels dont le diamètre est plus grand, pour faciliter l'observation par microscopie optique.

## **V.2. Etude sur les microgels micrométriques**

### **V.2.1. Mise en évidence de la dissymétrisation des microgels**

Dans cette partie, les microgels micrométriques sont fonctionnalisés à l'interface eau-huile avec la molécule fluorescente. Les résultats de la fonctionnalisation seront présentés pour les différentes structures de microgels, puis nous utiliserons un agent de couplage soluble dans la phase huile pour remplacer celui hydrosoluble, dans le but d'obtenir des particules dissymétriques différentes.

#### **V.2.1.1. Comparaison entre différentes structures**

Les microgels micrométriques MmC7, MmC30 et MmP10 sont adsorbés à l'interface eau-huile, avec une forte énergie (13 500 tr/min), avant d'être fonctionnalisés avec le fluorescéinamine et l'EDC. Les particules sont par la suite étudiées en épifluorescence afin d'identifier si elles sont dissymétriques ou non. Les clichés sont présentés Figure IV. 27. Après fonctionnalisation, les microgels sont visibles en épifluorescence, ce qui prouve que la fonctionnalisation a bien eu lieu. Dans les trois cas, seules les écorces sont fluorescentes, car c'est là où sont localisés les acides carboxyliques. En fonction de l'échantillon utilisé, nous constatons que les résultats sont différents. En effet, avec les microgels MmC7 (Figure IV. 27. a) la fluorescence est relativement homogène sur l'ensemble de l'écorce et certains microgels sont très déformés, alors qu'avec les microgels MmP10 (Figure IV. 27. c), on distingue très bien une différence d'intensité de fluorescence au sein des microgels qui ont conservé leur forme sphérique. Ces derniers ressemblent beaucoup aux petits microgels Janus préparés précédemment et confirment la possibilité de dissymétriser les microgels, tout en confirmant la difficulté à obtenir des structures identiques dans tout l'échantillon.

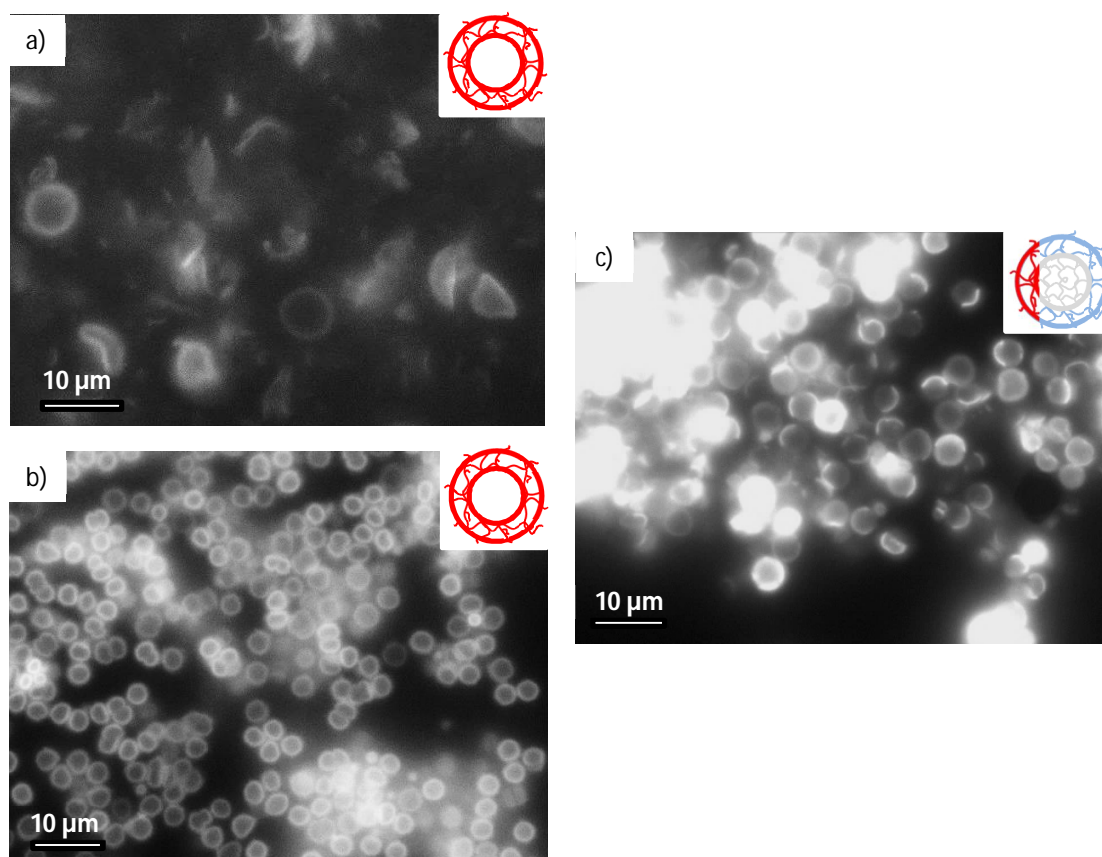


Figure IV. 27 : Image de microscopie à fluorescence de microgels a) MmC7, b) MmC30 et c) MmP10 fonctionnalisés à l'interface d'une émulsion préparée à 13 500 tr/min avec une concentration en microgels de 0,07 % massique dans la phase aqueuse. Les barres d'échelle représentent 10 µm. Les inserts rappellent la structure interne des microgels. La partie rouge représente la zone fonctionnalisée par la fluorescéine.

Pour l'échantillon MmC7, les images ne permettent pas de mettre en évidence avec certitude la présence de microgels Janus. En effet les microgels qui semblent avoir une inhomogénéité de fluorescence, sont également très déformés, il n'est donc pas possible d'en conclure si les microgels sont dissymétriques ou si l'inhomogénéité est provoquée par leur forme. Afin de contourner ce problème de déformation, nous avons choisi d'augmenter le pourcentage molaire de BIS dans les microgels pour qu'ils soient plus rigides, et qu'ils conservent leur forme sphérique après fonctionnalisation (Figure IV. 27. b). L'analyse en épifluorescence nous permet de constater que les microgels sont beaucoup moins déformés que ceux de l'échantillon MmC7. La fluorescence est homogène sur l'ensemble des écorces des microgels observés. Il en résulte



que la fonctionnalisation des microgels creux ne permet pas la préparation de particules Janus. L'absence de cœur réticulé peut en être la cause. En effet, dans ces conditions, la diffusion des espèces chimiques dans la matrice polymère est facilitée. L'hémisphère qui fait alors face à l'huile est moins bien protégé, provoquant ainsi une fonctionnalisation homogène. Afin de bloquer la diffusion des réactifs et de favoriser la fonctionnalisation de la surface des objets, nous avons préparé les émulsions à une température où les microgels sont contractés. L'observation des microgels fonctionnalisés dans ces conditions n'a pas permis de mettre en évidence la présence de particules Janus. La solidification de l'huile n'a également pas permis la préparation de microgels dissymétriques.

Dans cette partie nous avons pu mettre en évidence que la préparation de microgels Janus est également possible avec des microgels dont le diamètre est de plusieurs  $\mu\text{m}$ . En revanche, la fonctionnalisation, avec des réactifs hydrosolubles, à l'interface eau/huile de microgels dépourvus de cœur réticulé n'est pas adéquate pour la dissymétrisation.

#### **V.2.1.2.Fonctionnalisation avec un agent de couplage soluble dans l'huile**

Une série d'expériences a été réalisée en remplaçant l'agent de couplage hydrosoluble (EDC) par le N,N'-dicyclohexylcarbodiimide (DCC), également porteur de la fonction carbodiimide, qui intervient dans le mécanisme de fonctionnalisation. Contrairement à l'EDC, cette molécule est uniquement soluble dans la phase organique. La réaction de fonctionnalisation n'aura donc lieu que sur la zone des microgels en contact avec les deux phases (cf Figure IV. 28). Ce schéma n'est certainement pas représentatif de la réalité, car nous savons que les microgels sont déformés à l'interface et nous ne savons pas si une zone est effectivement mouillée par la phase huile ou si l'interface se déforme pour épouser la périphérie des microgels. L'observation des microgels fonctionnalisés dans ces conditions nous permettra d'obtenir des éléments de réponse sur ces interrogations.

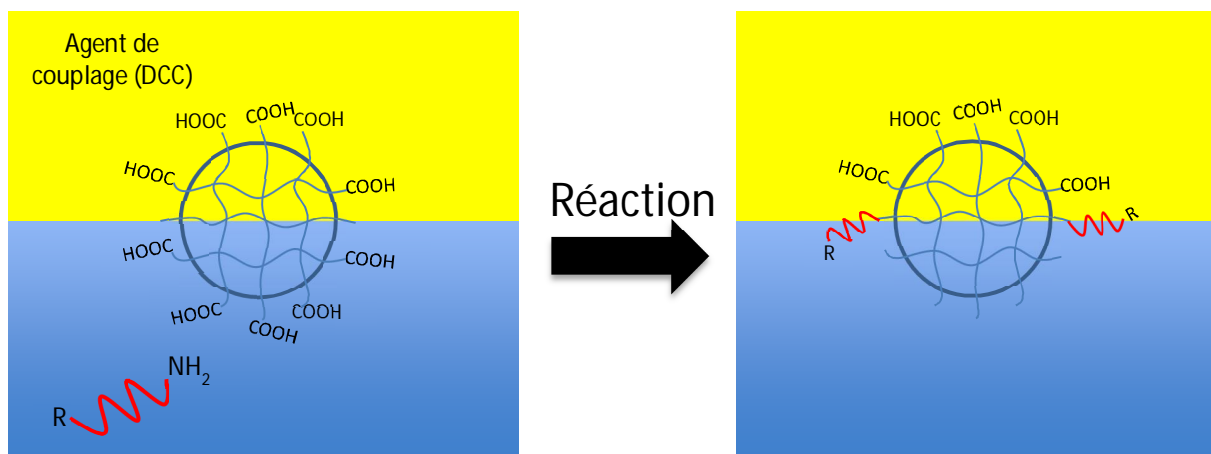


Figure IV. 28 : Schéma supposé de la fonctionnalisation des microgels à l'interface eau-huile avec l'agent de couplage insoluble en phase aqueuse

Cette nouvelle voie de fonctionnalisation est testée sur les microgels MmC30 et MmP10 dont les images obtenues en épifluorescence sont présentées Figure IV. 29. Ces images attestent qu'il est possible de fonctionnaliser les microgels en utilisant un greffon et un agent de couplage qui sont solubilisés dans des phases différentes. Pour tous les échantillons présentés, les microgels ne sont pas entièrement fluorescents, seule une ou plusieurs zones sont marquées par la molécule fluorescente, ce qui dans le cas des microgels MmP10 les rend difficilement identifiables en épifluorescence. Les microgels MmC7 et MmC30 sont plus facilement identifiables, car un grand nombre d'entre eux possède une zone fluorescente sur chaque hémisphère. Avec cette méthode, les microgels ne sont pas fonctionnalisés sur l'ensemble de la matrice mais en surface uniquement car la fluorescéinamine et le DCC se trouvent dans deux phases différentes. La fonctionnalisation des deux hémisphères peut avoir plusieurs explications : soit il s'agit de microgels adsorbés simultanément à deux interfaces, dans les films adhésifs entre gouttes d'émulsion, soit les microgels sont mobiles à l'interface et prennent différentes orientations pendant leur fonctionnalisation. Ainsi, uniquement les zones des microgels en contact avec chacune des phases sont fonctionnalisées. Avec ces microgels, les émulsions formulées sont floculées, ce qui implique qu'un certain nombre d'entre eux est adsorbé à la surface de deux gouttes d'huile différentes. De ce fait, lors de la fonctionnalisation les deux hémisphères en contact avec l'interface sont chimiquement modifiés, ce qui explique pourquoi les deux hémisphères sont fluorescents et séparés par une zone équatoriale non modifiée.

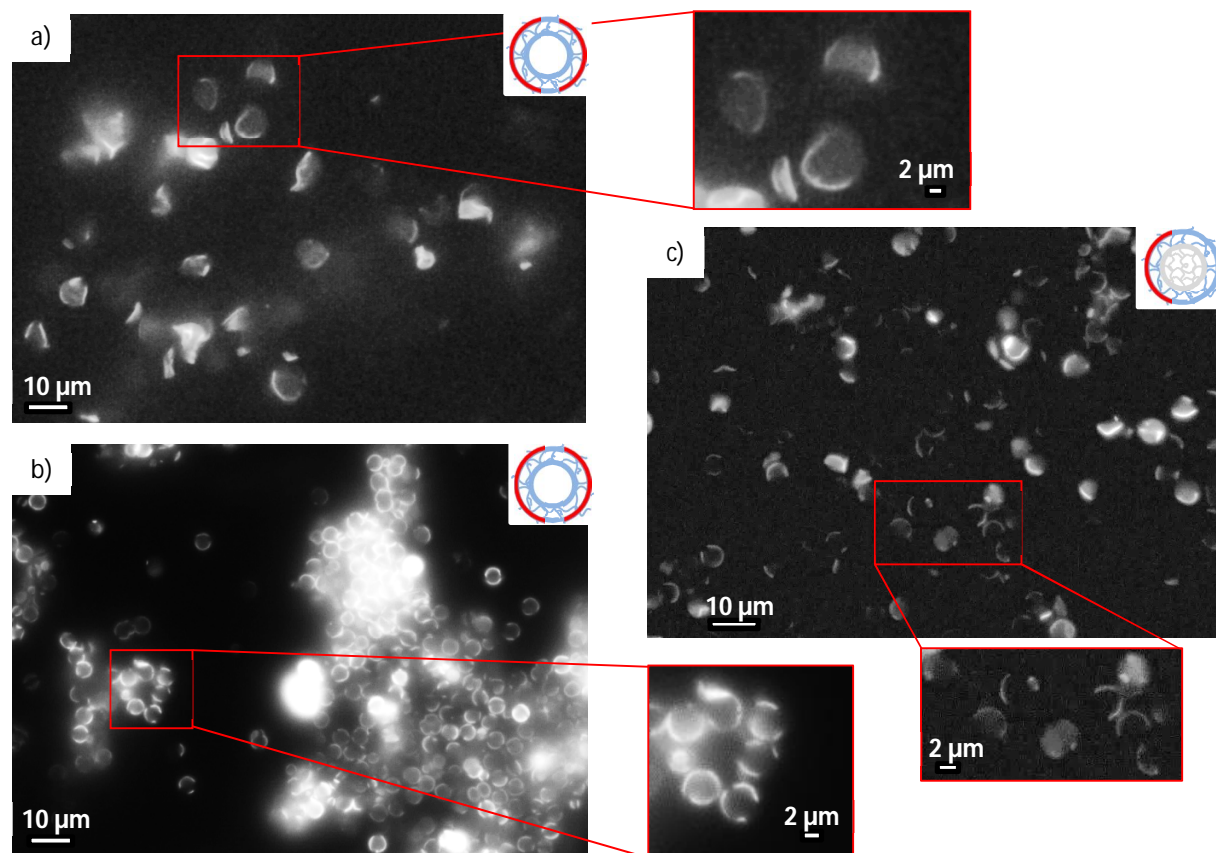


Figure IV. 29 : Image de microscopie à fluorescence de microgels a) MmC7, b) MmC30 et c) MmP10 fonctionnalisés avec le DCC à l'interface d'une émulsion préparée à 13 500 tr/min. Les barres d'échelle représentent 10 µm. Les inserts rappelle la structure interne des microgels. La partie rouge représente la zone fonctionnalisée par la fluorescéamine. Les images encadrées en rouge sont des zooms des zones indiquées. Les barres d'échelle représentent 2 µm.

D'après les images de la Figure IV. 29, la totalité de la surface des hémisphères semble être fonctionnalisée. Afin de confirmer cette hypothèse, les microgels MmC30 sont étudiés en microscopie optique confocale. Cette technique permet de prendre de nombreuses images dans différents plans pour ensuite effectuer une reconstruction 3D. De cette manière nous pouvons distinguer les zones fonctionnalisées de celles qui ne le sont pas. Plusieurs images de la reconstruction 3D de microgels sont présentées Figure IV. 30. Sur ces images, on distingue deux calottes sphériques fluorescentes qui sont face à face. Ces dernières correspondent aux régions d'un même microgel qui sont fonctionnalisées par la molécule fluorescente. Cette analyse confirme alors que la totalité de la surface en contact avec l'huile est modifiée chimiquement et

que la fonctionnalisation du volume n'est pas possible avec l'agent de couplage solubilisé dans la phase organique.

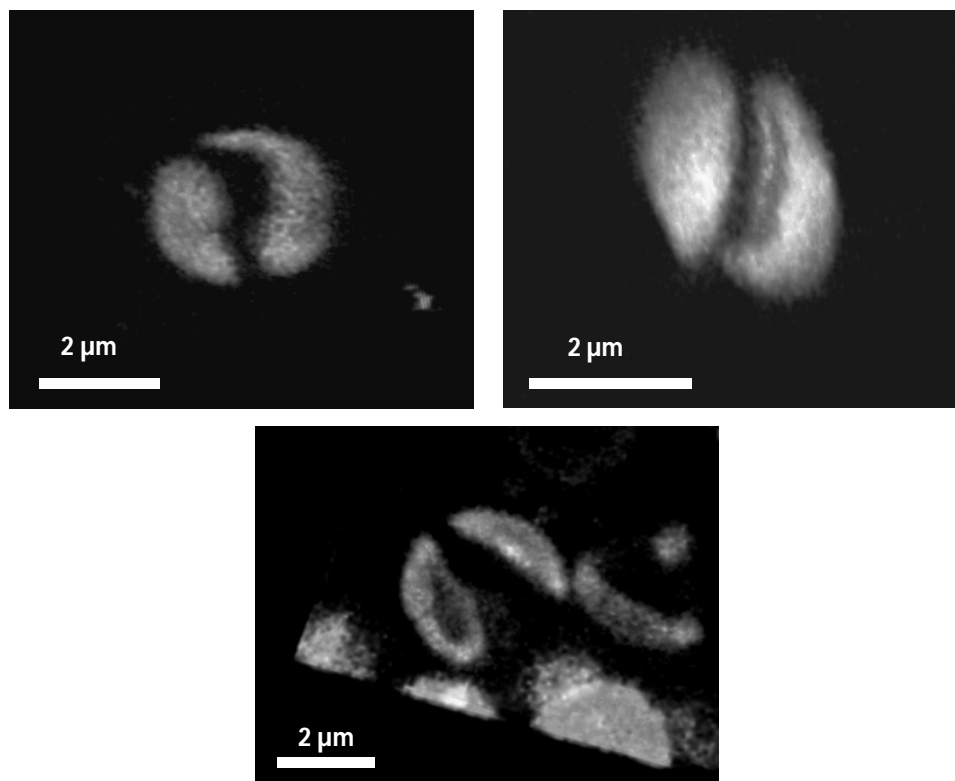


Figure IV. 30 : Reconstruction 3D de clichés enregistrés en microscopie confocale des microgels MmC30 dispersés dans l'eau pure. Les barres d'échelle représentent 2 µm.

L'utilisation d'un agent de couplage solubilisé dans la phase huile nous a permis de fonctionnaliser sélectivement les microgels dépourvus de cœur, mais la plupart possèdent deux calottes fonctionnalisées et sont donc symétriques. Le même constat est établi avec l'échantillon MmP10, mais la population de microgels, où un seul hémisphère est modifié, semble plus grande. Afin d'obtenir des échantillons avec un seul hémisphère fonctionnalisé, il faut réussir à produire des gouttes non adhésives couvertes de microgels. La diffusion des réactifs à travers la matrice dans la phase aqueuse doit être maîtrisée, soit en adoptant des structures qui limitent la diffusion des réactifs (augmentation de la densité de réticulation au sein des microgels), soit en réalisant la fonctionnalisation dans un état où les microgels sont contractés. D'après le chapitre III, ces deux critères sont à l'opposé d'une bonne stabilisation des émulsions.

Suite à ces résultats, nous avons choisis pour la suite de notre étude de ne plus travailler avec les microgels creux et peu réticulés (MmC7) et de fonctionnaliser l'échantillon MmC30 uniquement avec l'agent de couplage soluble dans la phase organique (DCC).

### V.2.2. Dissymétrisation d'hydrophobie des microgels micrométriques

Dans cette partie, les microgels sont fonctionnalisés à l'interface eau-huile avec un dérivé de l'acide phénylboronique susceptible de modifier l'hydrophobie de la matrice polymère. La fonctionnalisation des microgels avec l'APBA permet de modifier la balance hydrophile-hydrophobe de la matrice polymère en fonction du pH et de la présence de sucres. Comme indiqué sur la Figure IV. 31, les microgels présenteront une dissymétrie de forme à pH compris entre les pKa de l'acide boronique et de l'acide carboxylique, c'est-à-dire lorsque la partie non fonctionnalisée est totalement gonflée à cause de la matrice hydrophile et chargée, tandis que la zone modifiée par les boronates est non chargée et hydrophobe. L'état des microgels à ce pH sera comparé à leur état à pH élevé, pour lequel les microgels devraient être gonflés et sans interaction entre eux.

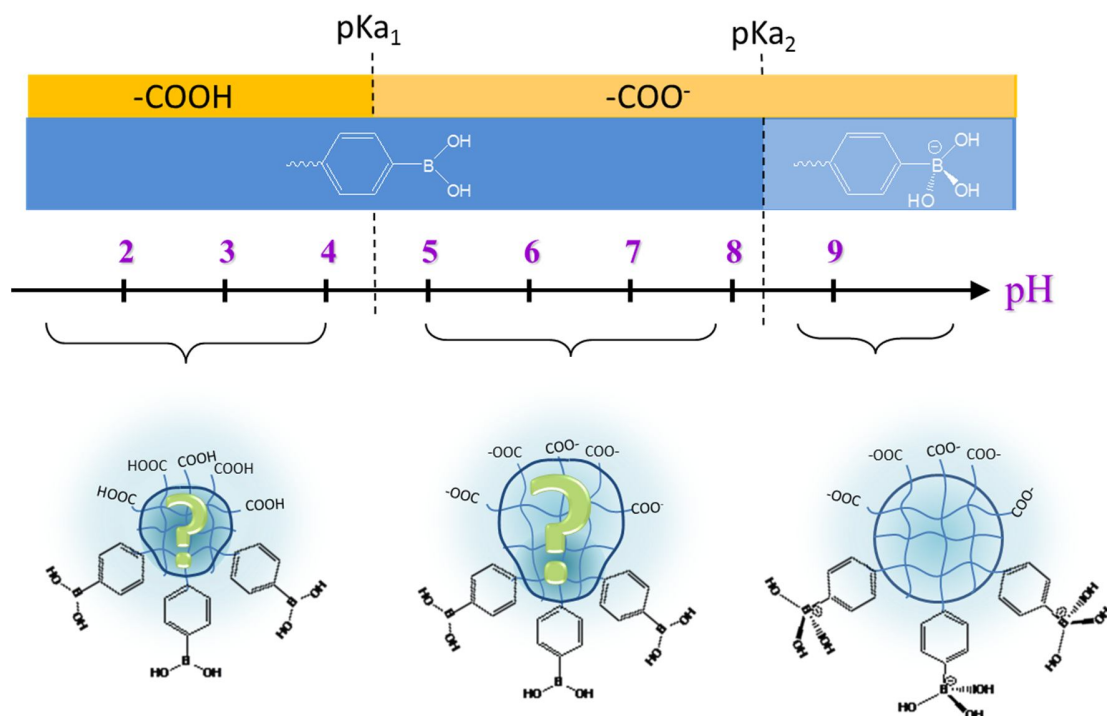


Figure IV. 31 : Schéma illustrant les différentes morphologies attendues des microgels qui possèdent une dissymétrie d'hydrophobie en fonction du pH.

La fonctionnalisation des microgels avec l'APBA a été réalisée sur l'échantillon MmP10 avec l'agent de couplage soluble dans la phase aqueuse à la surface d'émulsions préparées à 13 500 tr/min. Seul l'EDC est utilisé ici comme agent de couplage car il s'agit de fonctionnaliser les microgels en volume et non uniquement en surface pour induire une dissymétrie de gonflement. Seuls les microgels pleins sont étudiés puisque les structures creuses permettent la diffusion des réactifs dans tout le volume des microgels. La fonctionnalisation est réalisée dans les conditions optimisées dans la partie V.1.2.1, mais également avec un très large excès d'APBA et d'EDC (10 éq) en prenant soin de solidifier la phase huile afin d'éviter la destruction de l'émulsion. L'étude en épifluorescence des microgels en présence d'ARS permet de visualiser la localisation des motifs PBA et d'appréhender le caractère dissymétrique des microgels (cf Figure IV. 32).

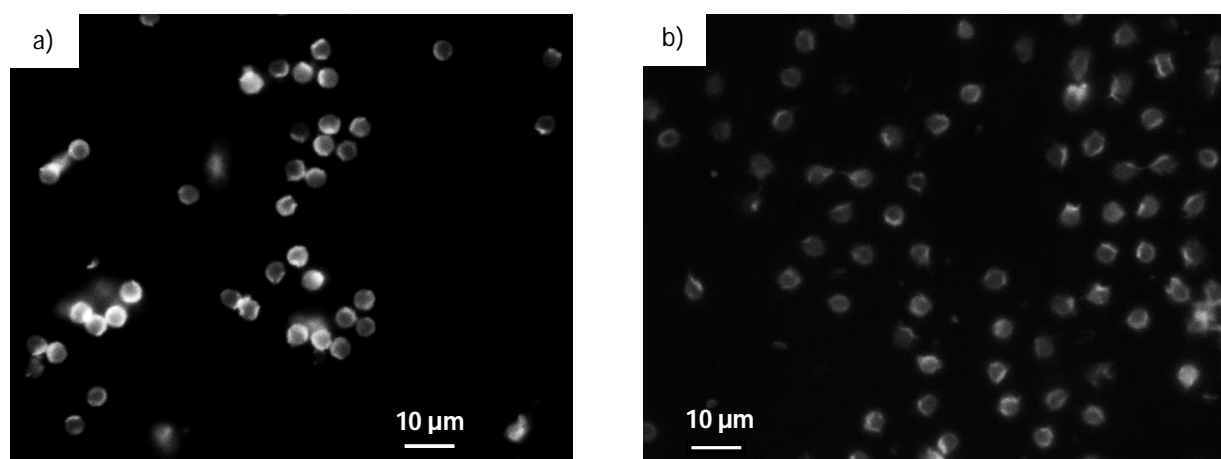


Figure IV. 32 : Image de microscopie à fluorescence de microgels MmP10 fonctionnalisés avec a) 4 équivalents d'APBA et 4 équivalents d'EDC et b) avec 10 équivalents d'APBA et 10 équivalents d'EDC à l'interface d'émulsions préparées à 13 500 tr/min. Les microgels sont dispersés dans du PBS 4 mM à pH 8,5 contenant 0,5 mM d'ARS.

Ces clichés permettent de mettre en évidence que les microgels présentent souvent une zone de fluorescence plus intense d'un côté des microgels. Le caractère dissymétrique existe donc. En revanche, il est plus ou moins marqué selon les particules observées, prouvant encore une fois la difficulté de produire des microgels de structure reproductible et maîtrisée. Nous constatons aussi que la morphologie des microgels est identique à celle obtenue lors de la fonctionnalisation avec la molécule fluorescente. Dans le but de vérifier si cette fonctionnalisation est capable de provoquer une dissymétrie de forme et/ou une auto-organisation, les microgels sont observés en microscopie optique en contraste de phase à un pH

où l'acide phénylboronique est neutre, et joue donc le rôle de greffon hydrophobe. Les microgels sont également étudiés à pH basique, lorsque le greffon est hydrophile, afin de pouvoir comparer les morphologies des microgels dans les deux conditions. Les clichés des microgels dispersés dans de l'eau pure acidifiée à pH 4 et basifiée à pH 9 sont présentés Figure IV. 33. D'après ces clichés, les microgels en solution acide ne semblent pas présenter de dissymétrie au niveau de leur forme. En effet, sur les clichés, on distingue un cœur très contrasté et une écorce moins contrastée, qui est circulaire et d'épaisseur homogène sur tout le contour des cœurs. La plupart des microgels sont isolés et ne sont pas en interaction avec d'autres. Quelques-uns semblent en interaction, mais le même type de structure est observé lorsqu'ils sont dispersés dans de l'eau basique (pH 9).

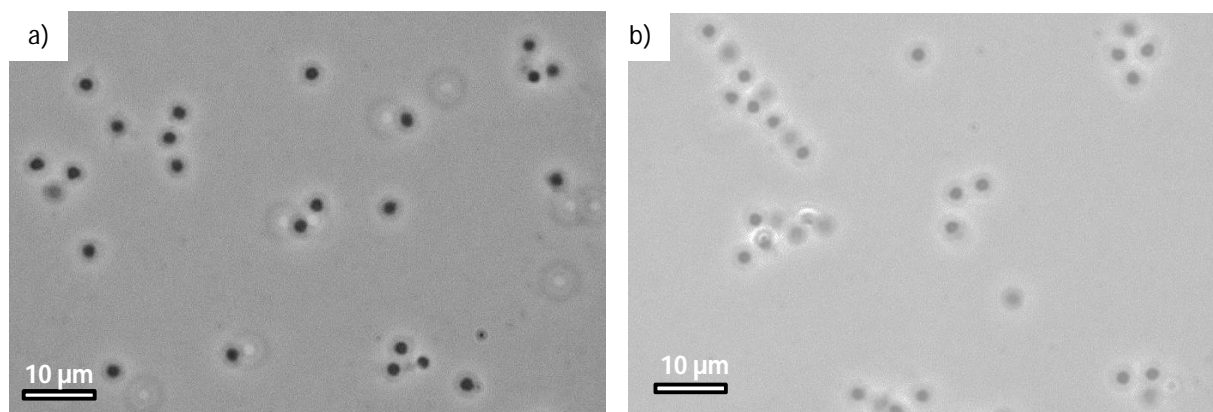


Figure IV. 33 : Image de microscopie optique en contraste de phase des microgels MmP10 fonctionnalisés avec 10 équivalents d'APBA et 10 équivalents d'EDC à l'interface d'une émulsion préparée à 13 500 tr/min. Les microgels sont dispersés dans de l'eau pure a) à pH 4 et b) à pH 9.

La même étude a été réalisée sur les microgels fonctionnalisés avec un plus faible excès de réactif et d'agent de couplage (4 équivalents) mais sont également restés infructueux en terme de dissymétrie de forme ou d'auto-assemblage.

### V.2.3. Dissymétrisation des charges des microgels

En fonctionnalisant les microgels à l'interface avec une diamine, des charges positives seront alors introduites dans la matrice polymère. Des forces attractives d'origine électrostatique inter et/ou intraparticule vont alors apparaître. Nous avons la possibilité de moduler ces

interactions en modifiant le pH de la solution. En effet, lorsque le pH est plus faible (ou plus élevé) que les pKa de l'acide et de l'amine, les microgels sont chargés positivement (ou négativement), il n'y a donc pas d'interactions attractives possibles (cf Figure IV. 34). En revanche, pour un pH compris entre les deux pKa, les microgels possèdent un hémisphère chargé négativement et l'autre hémisphère chargé positivement, ce qui est à l'origine de la formation de lignes de particules.<sup>11</sup> Lorsqu'un seul des deux hémisphères est chargé, nous sommes également susceptibles d'observer des taux de gonflement différents entre la zone chargée (plus gonflé à cause des répulsions électrostatiques entre charges de même signe) et la zone neutre (cf Figure IV. 34).

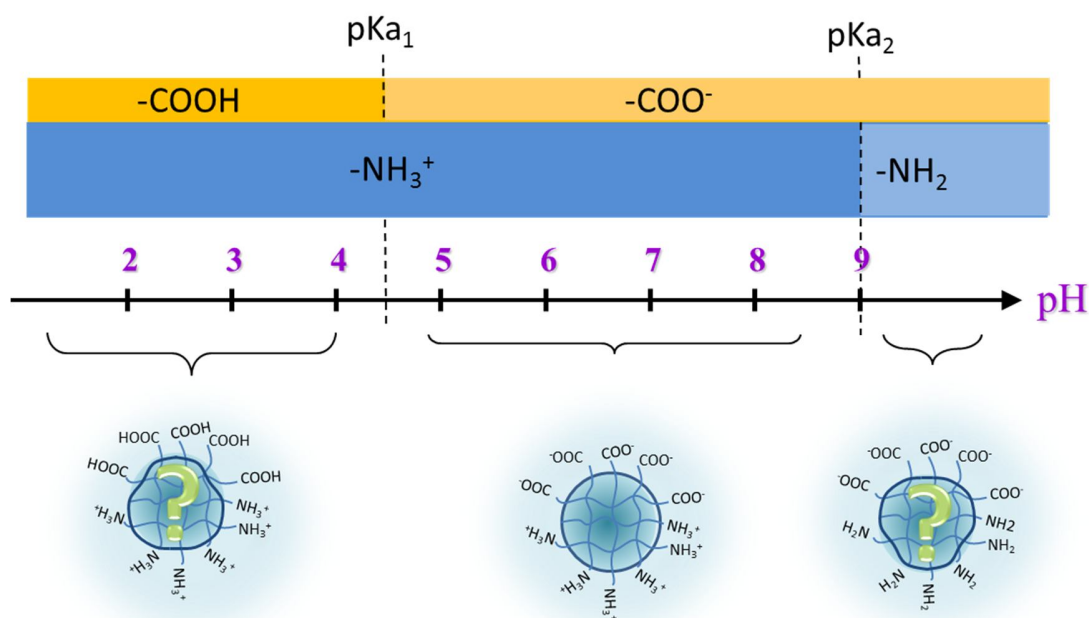


Figure IV. 34 : Schéma illustrant les différentes répartitions de charges attendues des microgels qui possèdent une dissymétrie de charges en fonction du pH.

Il convient de souligner que ce comportement n'est pas aussi simple que celui décrit. En effet, l'apport de charges cationiques se fait par greffage des fonctions COOH par les diamines. Selon le taux de greffage, on substitue donc une partie des charges négatives par des charges positives. A noter que ce mélange d'espèces conduit également à considérer le caractère polyampholyte des microgels. Rappelons que le taux de gonflement des gels de polyampholyte dépend du ratio entre



les charges. Lorsque le gel contient autant de charges positives que négatives, son taux de gonflement est bien plus faible que lorsque l'une des deux charges domine en milieu désionisé. Ces expériences de fonctionnalisation sont alors reproduites avec les microgels MmP10 à l'interface d'émulsions préparées à 13 500 tr/min. Etant donné que nous ne possédons pas de moyen simple pour révéler la dissymétrie des microgels, nous avons directement étudié leur comportement en fonction du pH, en faisant l'hypothèse que la fonctionnalisation à l'interface s'est réalisée de manière dissymétrique comme précédemment.

### V.2.3.1. Fonctionnalisation avec l'agent de couplage hydrosoluble (EDC)

Les mêmes conditions de fonctionnalisation à l'interface sont appliquées (4 équivalents d'amine et d'agent de couplage). Après fonctionnalisation, les microgels sont observés en microscopie optique à pH 4 et à pH 9 (cf Figure IV. 35).

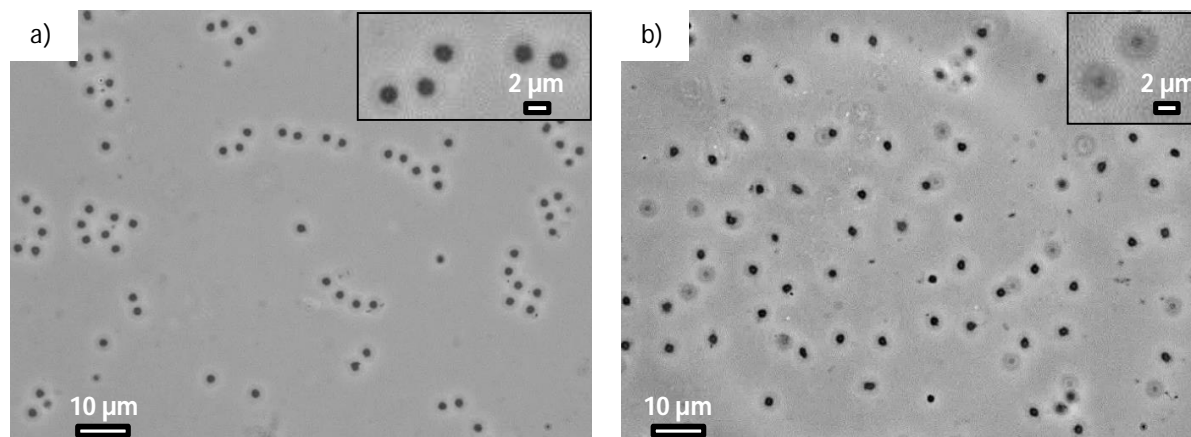


Figure IV. 35 : Image de microscopie en contraste de phase des microgels MmP10 fonctionnalisés avec 4 équivalents d'ED et 4 équivalents d'EDC à l'interface d'une émulsion préparée à 13 500 tr/min. Les microgels sont dispersés dans de l'eau pure à a) pH 4 et b) pH 9.

A pH 4, la majorité des microgels est en contact avec d'autres microgels, formant ainsi des lignes ou des agrégats non réguliers. En revanche, à pH 9 les microgels sont dispersés et ne sont pas en contact. Le diamètre des microgels ne semble pas influencé par le pH de la solution. Ce phénomène peut s'expliquer par le caractère polyampholyte des microgels.

### V.2.3.2. Fonctionnalisation avec l'agent de couplage soluble dans la phase organique (DCC)

Les mêmes microgels sont également étudiés en utilisant le DCC soluble dans l'huile comme agent de couplage. Le comportement des microgels fonctionnalisés avec les mêmes quantités d'équivalent est présenté Figure IV. 36.

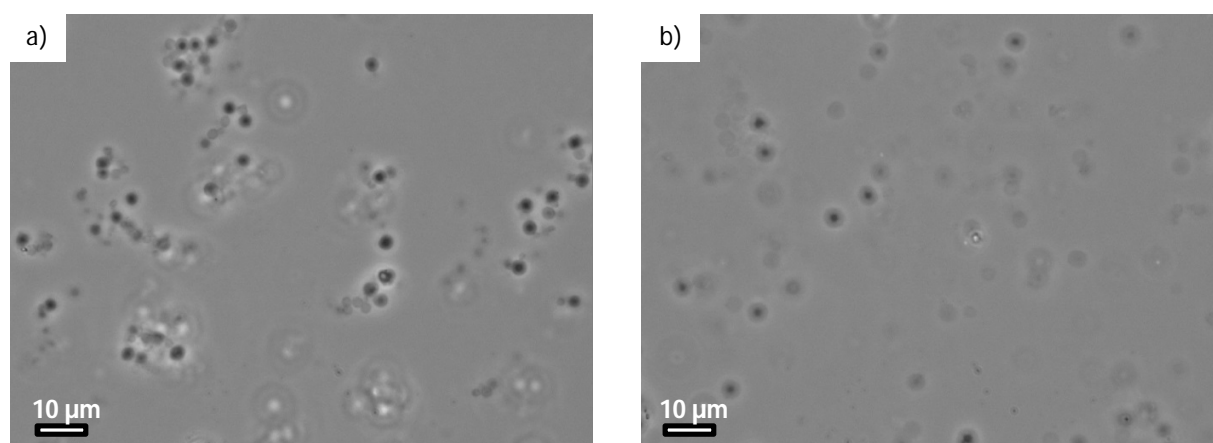


Figure IV. 36 : Image de microscopie en contraste de phase des microgels MmP10 fonctionnalisés avec 4 équivalents d'ED et 4 équivalents de DCC à l'interface d'une émulsion préparée à 13 500 tr/min. Les microgels sont dispersés dans de l'eau pure acidifié à a) pH 4 et b) pH9.

Les clichés obtenus pendant les analyses en microscopie optique montrent également que le diamètre des microgels n'est pas modifié avec le pH. Comme précédemment, nous constatons la présence d'agrégats à pH 4 qui disparaissent à pH 9. La fonctionnalisation avec le DCC ne nous a donc pas permis d'apporter plus de réponse sur l'origine des interactions, bien que le phénomène soit plus marqué que lors de la fonctionnalisation avec l'EDC.

Afin de vérifier si l'origine des interactions est électrostatique, nous avons observé l'influence de la salinité sur les assemblages de microgels. Si les interactions sont effectivement électrostatiques, l'écrantage des charges par le sel devrait provoquer la disparition partielle ou totale des agrégats. Les microgels sont étudiés en absence et en présence de 10 mM de chlorure de sodium (NaCl) à pH 4. Cette nouvelle observation permet de mettre en évidence qu'en l'absence de sel à pH 4, de nombreux agrégats se forment. Ces derniers ne sont pas identifiables dans l'échantillon qui contient du sel et dont le pH est également fixé à 4. Bien que certains

microgels demeurent agrégés, la plupart d'entre eux sont dispersés en solution. Les structures qui persistent ne sont composées que de deux ou trois microgels, contrairement à celles observées en l'absence de sel. Grâce à cette expérience nous avons pu prouver que les interactions qui provoquent l'assemblage des microgels sont bien de nature électrostatique. Nous avons également pu constater que la fonctionnalisation avec le DCC permet l'obtention de microgels dont l'organisation est contrôlable par le pH ou par la salinité du milieu.

La même approche a été utilisée pour fonctionnaliser les microgels MmC30 (microgels creux) avec le DCC comme agent de couplage. L'analyse des microgels en fonction du pH est présentée Figure IV. 37.

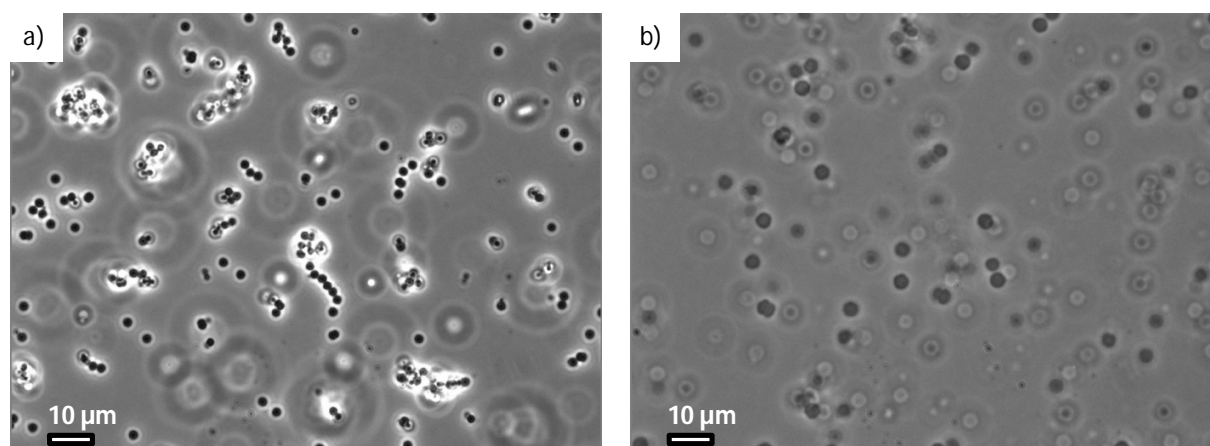


Figure IV. 37 : Image de microscopie en contraste de phase des microgels MmC30 fonctionnalisés avec 4 équivalents d'ED et 4 équivalents de DCC à l'interface d'une émulsion préparée à 13 500 tr/min. Les microgels sont dispersés dans de l'eau pure à a) pH 4 et b) pH 9.

Après fonctionnalisation, lorsque les microgels sont dispersés en solution à pH 4, ces derniers forment des agrégats, principalement sous forme de lignes composées d'au moins trois microgels, alors qu'aucun agrégat n'est observé à pH 9. Le diamètre des microgels est estimé à 1,8  $\mu\text{m}$  à pH 4 et 3,4  $\mu\text{m}$  à pH 9. La différence de diamètre est donc plus marquée que dans le cas des structures pleines.

Dans cette partie nous avons réussi à préparer des microgels dont l'organisation dépend des conditions environnementales, comme le pH ou encore la salinité, grâce à la présence d'interactions électrostatiques. Nous pouvons alors en conclure que l'hydrophobicité introduite

par les dérivés de l'acide phénylboronique n'est pas suffisante pour induire une auto-organisation avec ce type de matériaux.

### V.3. Discussion sur la conformation des microgels à l'interface eau-huile

Tableau IV. 7 : Tableau récapitulatif des fonctionnalisations et des observations réalisées.

Type de microgels	Greffon	Fonctionnalisation		Caractère dissymétrique	Auto-assemblage
		EDC	DCC		
Microgels « classiques »	Fluo	•		Oui	-
	APBA	•		Oui	Non
	Fluo	•		Oui	-
Microgels micrométriques pleins (cœur-écorce)			•	Oui	-
	APBA	•		Oui	Non
		•		-	Peu marqué
Microgels micrométriques creux (faible taux de réticulation)	ED		•	-	Oui dépendance au pH
		•		Microgels très déformés	-
	Fluo		•	Oui, microgels très déformés	-
Microgels micrométriques creux (fort taux de réticulation)		•		Non	-
	Fluo		•	Portions d'hémisphères	-
	ED		•		Oui, lignes Dépendance au pH

Dans le cas des microgels, il existe un lien entre leur conformation à l'interface et la dissymétrisation, ce qui n'est pas le cas des particules dures où le mouillage est le paramètre déterminant l'adsorption (mise en jeu de deux interfaces solide-liquide : solide-huile et solide-eau). Les microgels à l'interface eau-huile sont désormais vus comme une adsorption de polymères linéaires contraints par des réticulations, ou comme des protéines globulaires. Ainsi, si les fonctions greffables sont hydrophiles, elles vont s'exposer au maximum au contact de l'eau, ce qui ne permet pas d'immerger un hémisphère dans l'huile pour le protéger. La fonctionnalisation va alors s'étendre dans toute la particule, si le réactif peut diffuser jusqu'à ces fonctions. Le critère de diffusion des réactifs devient alors prépondérant, comme semble l'indiquer la différence de résultats entre les microgels qui possèdent un cœur réticulé et ceux qui n'en possèdent pas. De ce point de vue, le choix de microgels plus réticulés aurait pu être judicieux.

Le choix d'un agent de couplage soluble dans une phase différente de celle des fonctions greffables peut être astucieux et favoriser une modification chimique très locale à l'interface. Il est attendu dans ce cas que la densité de greffage soit faible. Cette fonctionnalisation ne permet pas de modifier le volume de la particule, mais uniquement la surface. Cette approche permet de conférer aux microgels des propriétés différentes, par exemple en terme d'adsorption, mais ne conviendra pas pour altérer ses propriétés de gonflement.

Dans le but d'améliorer ces résultats les études futures pourront être menées sur des microgels plus réticulés, afin de limiter la diffusion des réactifs et permettre une fonctionnalisation en volume. Cependant il est nécessaire de trouver un compromis entre les forts taux de réticulation pour limiter la diffusion des réactifs et les faibles taux de réticulation pour que l'on puisse observer des gonflements différenciés. L'adsorption à des interfaces de gouttes libres (pas de pontage) devra également être favorisée. On peut également envisager de diminuer la taille des microgels, (car cela permet de diminuer le pontage), mais la caractérisation sera alors difficile. Afin d'adsorber les microgels micrométriques sans pontage, nous proposons de préparer l'émulsion avec un excès de microgels, ce qui permettrait de les adsorber dans une conformation comprimée défavorable au phénomène de floculation.

## Conclusion

Dans ce chapitre nous avons réussi à mettre en évidence que la dissymétrisation de microgels adsorbés à l'interface eau/huile par modification chimique est possible. Ce concept a été mis en évidence grâce à la fonctionnalisation des microgels avec une molécule fluorescente : la fluorescéineamine. Après avoir établi la preuve de concept, nous avons essayé de l'appliquer à une autre espèce chimique composée d'acide phénylboronique. Cependant, nous nous sommes heurtés, pour caractériser nos particules, à des problèmes expérimentaux liés à leur faible dimension. Dans le but de contourner ces problèmes nous avons fait le choix de continuer notre étude sur des microgels micrométriques. Bien que les propriétés des émulsions formulées avec ces nouveaux matériaux soient différentes, nous avons tout de même réussi à dissymétriser des microgels avec la molécule fluorescente et le dérivé de l'acide phénylboronique. Contrairement à nos attentes, nous n'avons réussi à mettre en évidence ni la présence d'une organisation des microgels en fonction du pH, ni une forme dissymétrique des microgels liée au changement d'hydrophobicité provoqué par la modification chimique de la matrice par l'APBA. En revanche, nous avons constaté une organisation en fonction du pH lorsque les microgels sont fonctionnalisés avec une diamine. Nous avons pu déterminer que l'incorporation de charges positives dans la matrice provoque la formation de structures en fonction du pH. Le choix de l'agent de couplage a également un impact sur cette organisation, car les zones des microgels modifiées chimiquement sont différentes. Contre toute attente, l'agent de couplage qui permet la fonctionnalisation de surface uniquement permet d'observer les meilleures organisations sensibles au pH.

Cette étude, combinée avec celle du chapitre III menée en parallèle, a permis d'appréhender différemment le concept de fonctionnalisation d'un microgel adsorbé à une interface. En effet, comment fonctionnaliser en volume un seul hémisphère d'un microgel adsorbé alors que l'adsorption n'est pas symétrique et que l'essentiel du microgel est en contact avec la phase aqueuse ? Les éléments obtenus tendent à montrer que les microgels sont soit totalement fonctionnalisés (ou en grande partie, ce qui ne change pas leur aspect visuel), soit fonctionnalisés en surface. Le concept de gonflement dissymétrique ne peut donc pas être obtenu par une technique de post-fonctionnalisation. La seule issue serait de limiter la diffusion des réactifs lors

de la fonctionnalisation, en jouant sur le taux de réticulation par exemple, tout en prenant soin de ne pas compromettre le caractère déformable des microgels.

## Références :

- (1) Walther, A.; Müller, A. H. *Chemical Reviews* **2013**, *113*, 5194-5261.
- (2) Loget, G.; Roche, J.; Kuhn, A. *Advanced Materials* **2012**, *24*, 5111-5116.
- (3) Loget, G.; Roche, J. r.; Gianessi, E.; Bouffier, L.; Kuhn, A. *Journal of the American Chemical Society* **2012**, *134*, 20033-20036.
- (4) Fujimoto, K.; Nakahama, K.; Shidara, M.; Kawaguchi, H. *Langmuir* **1999**, *15*, 4630-4635.
- (5) Gangwal, S.; Cayre, O. J.; Velez, O. D. *Langmuir* **2008**, *24*, 13312-13320.
- (6) Cayre, O.; Paunov, V. N.; Velez, O. D. *Journal of Materials Chemistry* **2003**, *13*, 2445-2450.
- (7) Wu, L. Y.; Ross, B. M.; Hong, S.; Lee, L. P. *Small* **2010**, *6*, 503-507.
- (8) Perro, A.; Reculosa, S.; Pereira, F.; Delville, M.-H.; Mingotaud, C.; Duguet, E.; Bourgeat-Lami, E.; Ravaine, S. *Chemical Communications* **2005**, 5542-5543.
- (9) Hong, L.; Jiang, S.; Granick, S. *Langmuir* **2006**, *22*, 9495-9499.
- (10) Perro, A.; Meunier, F.; Schmitt, V.; Ravaine, S. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **2009**, *332*, 57-62.
- (11) Suzuki, D.; Tsuji, S.; Kawaguchi, H. *Journal of the American Chemical Society* **2007**, *129*, 8088-8089.
- (12) Umeda, Y.; Kobayashi, T.; Hirai, T.; Suzuki, D. *Colloid Polym Sci* **2011**, *289*, 729-737.
- (13) Bradley, M.; Rowe, J. *Soft Matter* **2009**, *5*, 3114-3119.
- (14) Saito, N.; Kagari, Y.; Okubo, M. *Langmuir* **2006**, *22*, 9397-9402.
- (15) Tanaka, T.; Nakatsuru, R.; Kagari, Y.; Saito, N.; Okubo, M. *Langmuir* **2008**, *24*, 12267-12271.
- (16) Saito, N.; Nakatsuru, R.; Kagari, Y.; Okubo, M. *Langmuir* **2007**, *23*, 11506-11512.
- (17) Saito, N.; Kagari, Y.; Okubo, M. *Langmuir* **2007**, *23*, 5914-5919.
- (18) Tanaka, T.; Okayama, M.; Minami, H.; Okubo, M. *Langmuir* **2010**, *26*, 11732-11736.
- (19) Tanaka, T.; Okayama, M.; Kitayama, Y.; Kagawa, Y.; Okubo, M. *Langmuir* **2010**, *26*, 7843-7847.
- (20) Kietzke, T.; Neher, D.; Kumke, M.; Ghazy, O.; Ziener, U.; Landfester, K. *Small* **2007**, *3*, 1041-1048.
- (21) Isojima, T.; Suh, S. K.; Vander Sande, J. B.; Hatton, T. A. *Langmuir* **2009**, *25*, 8292-8298.
- (22) Hu, S.-H.; Gao, X. *Journal of the American Chemical Society* **2010**, *132*, 7234-7237.
- (23) Furlan, M.; Kluge, J.; Mazzotti, M.; Lattuada, M. *The Journal of Supercritical Fluids* **2010**, *54*, 348-356.
- (24) Shah, R. K.; Kim, J.-W.; Weitz, D. A. *Advanced Materials* **2009**, *21*, 1949-1953.
- (25) Lone, S.; Kim, S. H.; Nam, S. W.; Park, S.; Cheong, I. W. *Langmuir* **2010**, *26*, 17975-17980.
- (26) Lone, S.; Kim, S. H.; Nam, S. W.; Park, S.; Joo, J.; Cheong, I. W. *Chemical Communications* **2011**, *47*, 2634-2636.
- (27) Higuchi, T.; Tajima, A.; Yabu, H.; Shimomura, M. *Soft Matter* **2008**, *4*, 1302-1305.
- (28) Roh, K.-H.; Martin, D. C.; Lahann, J. *Nat Mater* **2005**, *4*, 759-763.
- (29) Lim, D. W.; Hwang, S.; Uzun, O.; Stellacci, F.; Lahann, J. *Macromolecular Rapid Communications* **2010**, *31*, 176-182.
- (30) Hwang, S.; Roh, K.-H.; Lim, D. W.; Wang, G.; Uher, C.; Lahann, J. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2010**, *12*, 11894-11899.
- (31) Misra, A. C.; Bhaskar, S.; Clay, N.; Lahann, J. *Advanced Materials* **2012**, *24*, 3850-3856.
- (32) Serra, C. A.; Chang, Z. *Chemical Engineering & Technology* **2008**, *31*, 1099-1115.



- (33) Dendukuri, D.; Doyle, P. S. *Advanced Materials* **2009**, *21*, 4071-4086.
- (34) Shum, H. C.; Abate, A. R.; Lee, D.; Studart, A. R.; Wang, B.; Chen, C. H.; Thiele, J.; Shah, R. K.; Krummel, A.; Weitz, D. A. *Macromolecular Rapid Communications* **2010**, *31*, 108-118.
- (35) Nisisako, T.; Torii, T.; Higuchi, T. *Chemical Engineering Journal* **2004**, *101*, 23-29.
- (36) Nie, Z.; Li, W.; Seo, M.; Xu, S.; Kumacheva, E. *Journal of the American Chemical Society* **2006**, *128*, 9408-9412.
- (37) Chen, C.-H.; Shah, R. K.; Abate, A. R.; Weitz, D. A. *Langmuir* **2009**, *25*, 4320-4323.
- (38) Seiffert, S.; Romanowsky, M. B.; Weitz, D. A. *Langmuir* **2010**, *26*, 14842-14847.
- (39) Seiffert, S.; Weitz, D. A. *Polymer* **2010**, *51*, 5883-5889.
- (40) Erhardt, R.; Böker, A.; Zettl, H.; Kaya, H.; Pyckhout-Hintzen, W.; Krausch, G.; Abetz, V.; Müller, A. H. E. *Macromolecules* **2001**, *34*, 1069-1075.
- (41) Liu, A.; Abetz, V.; Müller, A. H. E. *Macromolecules* **2003**, *36*, 7894-7898.
- (42) Walther, A.; Drechsler, M.; Rosenfeldt, S.; Harnau, L.; Ballauff, M.; Abetz, V.; Müller, A. H. E. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131*, 4720-4728.
- (43) Walther, A.; André, X.; Drechsler, M.; Abetz, V.; Müller, A. H. E. *Journal of the American Chemical Society* **2007**, *129*, 6187-6198.
- (44) Sfika, V.; Tsitsilianis, C.; Kiriy, A.; Gorodyska, G.; Stamm, M. *Macromolecules* **2004**, *37*, 9551-9560.
- (45) Cheng, L.; Hou, G.; Miao, J.; Chen, D.; Jiang, M.; Zhu, L. *Macromolecules* **2008**, *41*, 8159-8166.
- (46) Cheng, L.; Zhang, G.; Zhu, L.; Chen, D.; Jiang, M. *Angewandte Chemie International Edition* **2008**, *47*, 10171-10174.
- (47) Voets, I. K.; Fokink, R.; Hellweg, T.; King, S. M.; Waard, P. d.; Keizer, A. d.; Cohen Stuart, M. A. *Soft Matter* **2009**, *5*, 999-1005.
- (48) Ma, R.; Wang, B.; Xu, Y.; An, Y.; Zhang, W.; Li, G.; Shi, L. *Macromolecular Rapid Communications* **2007**, *28*, 1062-1069.
- (49) Voets, I. K.; de Keizer, A.; de Waard, P.; Frederik, P. M.; Bomans, P. H. H.; Schmalz, H.; Walther, A.; King, S. M.; Leermakers, F. A. M.; Cohen Stuart, M. A. *Angewandte Chemie International Edition* **2006**, *45*, 6673-6676.
- (50) Wurm, F.; König, H. M.; Hilf, S.; Kilbinger, A. F. M. *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130*, 5876-5877.
- (51) Du, J.; Armes, S. P. *Soft Matter* **2010**, *6*, 4851-4857.
- (52) Li, X.; Yang, H.; Xu, L.; Fu, X.; Guo, H.; Zhang, X. *Macromolecular Chemistry and Physics* **2010**, *211*, 297-302.
- (53) Zubarev, E. R.; Xu, J.; Sayyad, A.; Gibson, J. D. *Journal of the American Chemical Society* **2006**, *128*, 15098-15099.
- (54) Hu, J.; Zhou, S.; Sun, Y.; Fang, X.; Wu, L. *Chemical Society Reviews* **2012**, *41*, 4356-4378.
- (55) Li, Z.; Kwok, M. H.; Ngai, T. *Macromolecular rapid communications* **2012**, *33*, 419-425.
- (56) Ohshima, H. *Journal of colloid and interface science* **1994**, *163*, 474-483.
- (57) Destribats, M.; Wolfs, M.; Pinaud, F.; Lapeyre, V.; Sellier, E.; Schmitt, V.; Ravaine, V. *Langmuir* **2013**, *29*, 12367-12374.
- (58) Destribats, M.; Eyharts, M.; Lapeyre, V.; Sellier, E.; Varga, I.; Ravaine, V.; Schmitt, V. *Langmuir* **2014**, *30*, 1768-1777.

## Conclusion générale et perspectives

---

Dans ce mémoire de thèse, nous avons exploité les propriétés stimulables et déformables des microgels afin de développer une nouvelle gamme de capteurs, d'approfondir les connaissances sur le mécanisme de stabilisation d'émulsions et la préparation de microgels dissymétriques.

Grâce aux propriétés de photoluminescence et d'électrochimiluminescence du complexe de ruthénium copolymérisé dans les microgels, nous avons réussi à préparer des microgels luminescents. L'étude de leurs propriétés spectroscopiques en fonction du taux de gonflement a permis de mettre en évidence que les centres redox sont effectivement greffés sur les microgels, qu'ils sont électroactifs et a priori tous adressables. L'évolution des propriétés de luminescence est dépendante de la technique utilisée. En effet, lors de l'étude en fonction de la température, nous avons mis en évidence une diminution linéaire de l'intensité émise en photoluminescence, alors que par électrochimiluminescence, nous avons observé un phénomène d'exaltation. La modulation de la matrice permet de moduler le signal ECL. L'origine de ce phénomène peut être le rapprochement des sites redox, ce qui favorise le transfert d'électrons dans la matrice polymère, ou encore la modification d'hydrophobie.

Ce concept devrait être généralisable à tout type de matrice stimulable. La compatibilité entre le stimulus et l'électrochimie devra toutefois être vérifiée. Nos efforts pour transposer le concept à des matrices sensibles au glucose se sont révélés infructueux, bien que le stimulus ne soit pas remis en question dans les conditions testées (le ligand du glucose n'est pas dégradé). En revanche, ces systèmes présentent une modulation inattendue du signal de photoluminescence, lié aux interactions entre le phénylboronate et le complexe de ruthénium. Ces interactions sont peut-être en cause pour expliquer que la réponse ECL ne soit pas modulée par les variations de gonflement.

Le phénomène d'ECRET n'a pas pu être mis en œuvre dans les microgels, lié au choix du couple donneur-accepteur. Bien que les microgels stimulables constituent d'excellents supports pour provoquer des phénomènes de FRET entre donneur et accepteur par modulation de leur inter-distance, l'application à l'ECL ne peut se faire que sur la base d'un accepteur dont les propriétés ne seront pas altérées par l'application d'un potentiel. Notre tentative de protection de l'accepteur en l'isolant de l'électrode, grâce à une architecture cœur-écorce (accepteur greffé uniquement dans le cœur), n'a pas fonctionné : la cyanine est tout de même accessible à l'oxydation. Afin de

contourner ce problème, plusieurs solutions ont été envisagées. La première consiste à changer la nature du polymère qui constitue le cœur des microgels afin d'obtenir un cœur plus isolant vis-à-vis de l'électrode. Le polystyrène semble être un bon candidat, car il est capable de fournir une bonne isolation sans rendre la technique de synthèse plus compliquée. La seconde est de garder le complexe de ruthénium comme donneur et d'utiliser le bleu de Nil comme accepteur. L'étude de son oxydation devra être envisagée afin de vérifier qu'il n'est pas électroactif. Dans le cas contraire, le choix du donneur devra également être remis en question.

Ces microgels luminescents sont donc de bons candidats pour une application en tant que capteurs ou biocapteurs et peuvent également avoir une potentielle application dans le domaine de l'imagerie médicale, car le phénomène de FRET permet de contourner certains problèmes comme l'auto-fluorescence en milieu biologique.

L'étude menée dans le troisième chapitre de cette thèse a permis de mettre en évidence que les microgels sont capables de s'adsorber spontanément et de manière quasi-irréversible à l'interface eau-huile et qu'ils présentent de nombreuses similitudes avec l'adsorption de polymères amphiphiles linéaires, ou l'adsorption de protéines. Ces objets peuvent prendre différentes conformations au cours du temps. L'état d'équilibre est un état où les microgels sont comprimés. La conformation adoptée par les microgels à l'interface peut également être modifiée par les conditions d'émulsification (concentration en particules, taux de cisaillement, ...). Les propriétés mécaniques des interfaces dépendent de leur conformation. Elles varient donc selon l'état d'adsorption, avec un maximum d'élasticité quand les chaînes sont étendues à l'interface et les microgels légèrement interpénétrés. Ce maximum d'élasticité ne correspond pas aux deux conformations limites dans lesquels les microgels stabilisent les émulsions. En effet, dans ces dernières, deux conformations limites ont été observées : les microgels aplatis, lorsque la pression de surface est quasi nulle, et les microgels comprimés, ce qui correspond à l'état d'équilibre d'adsorption spontanée. L'origine de la stabilité des émulsions reste donc encore floue aujourd'hui, notamment en ce qui concerne le rôle de la réticulation des microgels. La seule différence que nous avons pu identifier se situe au niveau de la compressibilité des microgels à des taux de compression élevés, accessibles uniquement mécaniquement. Des études complémentaires sur les propriétés mécaniques des interfaces pourront être envisagées : elles devront viser à sonder les liens entre microgels et non les propriétés des chaînes de polymères

elles-mêmes. Des mesures en cisaillement pourront être réalisées sur des interfaces planes ou des études de compression des émulsions.

D'une manière générale, de nombreuses questions sont encore en suspens sur les mécanismes de déstabilisation des émulsions stabilisées par des microgels. Les expériences menées dans le cadre de cette thèse ont toujours été réalisées dans le régime où les microgels sont en bon solvant dans l'eau. Or, il est désormais acquis que le passage en mauvais solvant déstabilise les émulsions. Quel en est réellement le mécanisme ?

Cette étude a permis de comprendre que la stabilisation des émulsions par des microgels ne requiert pas un enchevêtrement important des écorces. Nous avons également constaté que la concentration en particules dans la sous-phase, au même titre que les conditions d'émulsification ou encore la taille ou la composition des microgels, sont des facteurs qui permettent de modifier la conformation des microgels à la surface des gouttes et donc les propriétés macroscopiques des émulsions. Cette information est importante pour la formulation d'émulsions avec des propriétés adéquates pour l'application envisagée et nous a été utile dans le cadre de nos travaux de dissymétrisation de microgels. Ainsi l'expérimentateur peut contrôler indépendamment la taille des gouttes d'huile de l'émulsion et l'état de floculation. Pour viser des applications industrielles, la déstabilisation doit être bien maîtrisée, totale et « réversible » (on doit pouvoir ré-émulsionner). Les transitions d'un état à l'autre devront être étudiées. Ces connaissances permettront également de mieux appréhender le comportement des protéines à une interface et pourquoi pas, permettront d'envisager de nouvelles façons de manipuler ces objets à une interface

Enfin, le dernier volet a consisté à produire de nouveaux matériaux à structure hiérarchique en tirant profit de la manipulation des microgels à une interface. De manière générale, le sujet traite de la manipulation des microgels, de leur organisation, en vue de les fonctionnaliser de façon contrôlée. L'étude des microgels à l'interface et la comparaison avec les polymères linéaires et les protéines donne une vision nouvelle de ces systèmes, les éloignant de la comparaison avec les particules dures. La fonctionnalisation spécifique d'un hémisphère bénéficiant du masquage de l'autre à une interface a été démontrée avec une molécule fluorescente, mais demeure délicate. La préparation de microgels avec une dissymétrie de forme semble compromise par cette technique. En revanche, une fonctionnalisation très localisée sur

une partie des chaînes en surface semble possible car elle est à l'origine d'auto-assemblages contrôlés dans le cas d'une dissymétrie de charges. Néanmoins, cet aspect nécessite d'être approfondi.

L'étude de l'auto-assemblage de ces structures nécessite une très grande reproductibilité de la synthèse des objets Janus. Pour cela, la fonctionnalisation devrait se faire dans des conditions où la diffusion des réactifs jusqu'aux microgels immobilisés à la surface des gouttes n'est pas obstruée. Tous les microgels devraient également être adsorbés dans la même conformation. Pour cela, la production de gouttes identiques et parfaitement individualisées devrait apporter une amélioration importante du processus de production des microgels Janus. La production de gouttes stabilisées par des microgels en microfluidique devrait répondre à cette problématique.

L'aspect stimuable et la déformabilité des microgels, le tout associé à une très bonne biocompatibilité du fait de leur grand état d'hydratation, ouvre de nombreuses perspectives pour des nouveaux systèmes de délivrance d'actifs ou des biocapteurs. Leur comportement dans des milieux complexes devra être bien compris, tant à l'interface qu'en solution. L'introduction de réponses hiérarchisées par le contrôle de leur structure ou encore l'induction d'auto-assemblages leur donnera de nouvelles fonctions. Par ailleurs, les microgels pourront également être utilisés comme additifs de formulation à base aqueuse, dont la stabilité peut être contrôlée. Cet aspect présente un intérêt certain pour répondre aux nouveaux défis environnementaux avec une nouvelle approche du cycle de vie des produits formulés.

## **Etude des propriétés interfaciales et lumineuses de microgels stimulables**

Les microgels sont des particules colloïdales de polymère réticulé gonflées par un solvant. Déformables et poreuses, elles peuvent changer d'état de gonflement lors de l'application d'un stimulus. Ce travail de thèse a pour but de développer de nouveaux concepts tirant profit des propriétés stimulables et de la déformabilité intrinsèque des microgels tout en approfondissant les connaissances sur le comportement de ces objets en solution et aux interfaces. Les microgels de poly(N-alkylacrylamide) sont utilisés comme modèles. Dans un premier temps, notre travail a porté sur l'étude d'un nouveau type de microgels électrochimiluminescents grâce à l'incorporation d'un complexe métallique de ruthénium dans la matrice polymère. A la transition de phase, ces microgels présentent une exaltation de l'intensité ECL jusqu'à 2 ordres de grandeur, en lien avec la distance entre les sites redox. Le concept est ensuite transposé à des microgels sensibles aux saccharides et à des systèmes comportant deux luminophores, un donneur ECL et un accepteur d'énergie pouvant donner lieu à un transfert d'énergie par résonance. La deuxième partie de la thèse est consacrée à l'adsorption de microgels à une interface liquide-liquide plane, en vue de mieux comprendre l'origine de la stabilité des émulsions stabilisées par ce genre d'objets. De façon analogue aux protéines flexibles, les microgels changent de conformation à l'interface, passant d'un état étendu à un état comprimé, à l'origine de variations de l'élasticité interfaciale. Les microgels ainsi adsorbés sont fonctionnalisés de façon régiosélective dans l'eau et permettent de produire des microgels non symétriques, dits Janus, susceptibles de s'auto-assembler.

**Mots clés :** microgels, particule déformable, polymère stimuable, électrochimiluminescence, photoluminescence, transfert d'énergie, émulsion de Pickering, film de Langmuir, élasticité interfaciale, microgels Janus.

## **Study of interfacial and luminescent properties of stimuli-sensitive microgels**

Microgels are colloidal particles made of cross-linked polymer swollen by a solvent. Soft and porous, they can adapt their swelling degree in response to a stimulus. The main objective of this work is to develop new concepts taking advantage of microgels' stimuli-responsive properties and intrinsic softness while deepening understanding of their properties in solution and at interfaces. Poly(N-alkylacrylamide) microgels are used as a model. Initially our work focused on the study of a new type of electrochemiluminescent (ECL) microgels thanks to the incorporation of a ruthenium complex in the polymer matrix. At the volume phase transition, these microgels exhibit an amplification of the ECL intensity up to 2 orders of magnitude, related to the decrease of the distance between redox sites. This concept is then transposed to saccharides-sensitive microgels and systems bearing two luminophores, an ECL donor and an energy acceptor in order to give rise to resonance energy transfer. The second part of this manuscript is devoted to adsorption of microgels at a planar liquid-liquid interface, to improve knowledge on the origin of the stability of emulsions stabilized by such objects. Such as flexible proteins, microgels can change their conformation at the interface, from an extended to a compressed state, causing variation in the interfacial elasticity. When microgels are adsorbed they can also be functionalized regioselectively in water to produce non-symmetrical microgels, called Janus, able to self-assemble.

**Keywords :** microgels, soft particle, stimuli-responsive polymer, electrochemiluminescence, photoluminescence, energy transfer, Pickering emulsion, Langmuir film, interfacial elasticity, Janus microgels.